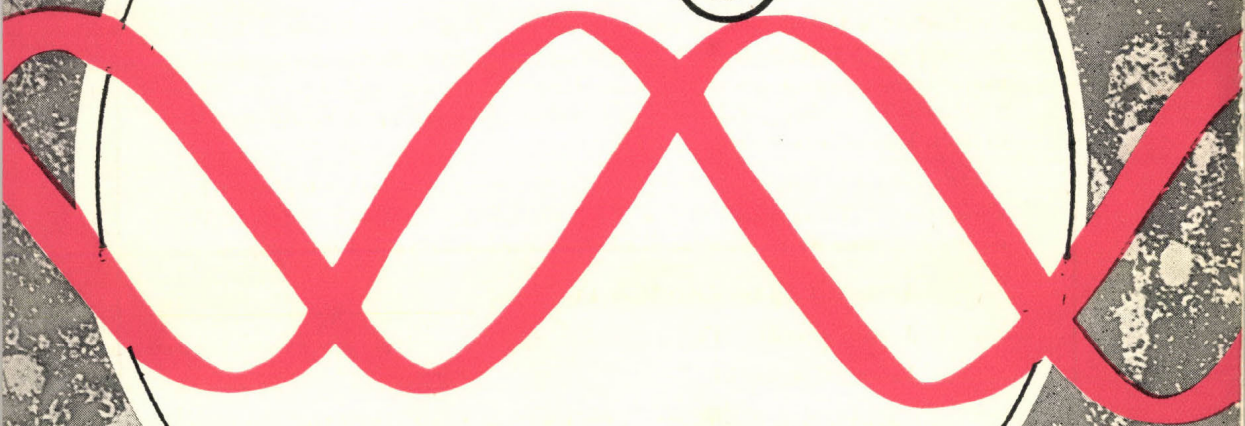


✓ 304.444

VII

25
1977

biológia



25, 1977/1

AKADÉMIAI KIADÓ, BUDAPEST

9

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 sejtan, 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 összegző (*review*) munkák;
3. az adott formában másutt nem publikált eredeti *kísérleti* beszámolók.

A lap ezenkívül *vitákat* indító vagy azokhoz hozzászóló cikkeket, *könyvismertetőket* 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 rendelkezik másként — térítés ellenében 100—100 különlenyomatot bocsátunk rendelkezésükre.

Terjeszti a Magyar Posta

Előfizethető a hírlapkézből postahivataloknál és a Posta Központi Hírlap Irodánál (KHI 1900 Budapest V., József nádor tér 1.) közvetlenül, vagy postátalványon, 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:

BALÁZS ANDRÁS
CSÁNYI VILMOS
DOBOZY OTTÓ

technikai szerkesztő

GUBA FERENC
KISZELY GYÖRGY
TÖRÖK LÁSZLÓ
VIDA GÁBOR



AKADÉMIAI KIADÓ, BUDAPEST

MAGYAR
TUDOMÁNYOS AKADÉMIA
KÖNYVTÁRA

RECEIVED

NOV 18 1888

NOV 18 1888

1

EGY MELLÉKPAJZSMIRIGYBŐL ISZOLÁLT ÚJ BIOAKTÍV ANYAG, A LITORALON FELISMERÉSÉNEK ELMÉLETI HÁTTERE. TOVÁBBI ELMÉLETI MEGFONTOLÁSOK

FEUER LÁSZLÓ

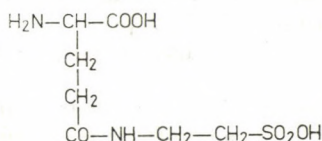
CHINOIN Gyógyszer- és Vegyészeti Termékek Gyára, Budapest

Beérkezett: 1976. november 18-án

Kulcsszavak: mellékpajzsmirigy, A-vitamin metabolizmus, filogenesis, ontogenesis, membrán permeabilitás.

I. Az új hatóanyag izolálásának és hatásának vázlatos bemutatása

Szarvasmarha mellékpajzsmirigypor zsírtalanított vizes extraktumának fehérjementesítése és a fehérjelecsapószer (triklórecetsav) extrakcióval történő maradéktalan eltávolítása után nyert liofilizátum patkányban történő vizsgálata széles körű élettani hatást mutatott [40]. A továbbiakban célul tűztük ki a feltételezett új, parathormontól mentes bioaktív anyag mellékpajzsmirigyből történő izolálását, szerkezetének felderítését és szintézisét. Az izolálási munka Furka Árpáddal, Sebestyén Ferencsel (Eötvös Loránd Tudományegyetem Szerves Kémiai Tanszék), valamint Hercsel Imrénével (CHINOIN Gyógyszergyár) együttműködve, sikerre vezetett. Az izolált anyag szerkezeti képletének felderítését és szintézisét Furka Árpád és Sebestyén Ferenc végezte. A szarvasmarha mellékpajzsmirigyből izolált új hatóanyag kémiai szerkezetét illetően gamma-L-glutamyl-aurinnak bizonyult, mely a *litoralon* elnevezést nyerte.



Gamma-L-glutamyl-aurin (*litoralon*)

Az izolálás során nyert, különböző tisztasági fokú koncentrátumok, vegytiszta hatóanyag, illetve szintetikus készítmény minden tekintetben azonos élettani hatást fejt ki, mint a természetes eredetű mellékpajzsmirigypor orális dozírozásban. (Ílyenkor a mirigyporban levő ismert kalciumaktív parathormon hatástalan, mert mint polipeptidet, az emésztőenzimek elbontják.)

Itt számolunk be a *litoralon* felfedezését és széles körű élettani hatásának felismerését lehetővé tevő munkahipotézisről, valamint a kísérleti eredmények tükrében az ezzel kapcsolatos további megfontolásokról. Ennek ismertetése előtt rövid felsorolásban bemutatjuk a *litoralon* legfontosabb élettani, biokémiai és klinikai terápiás hatásait az elméleti rész kellő megvilágí-

tása céljából. A felsorolás két fő csoportban történik: A-vitaminszerű és nem A-vitaminszerű hatások csoportosításában, mert a litoralon fő hatása az A-vitamin metabolizmust érinti. Ennek részletesebb értelmezésére a munkahipotézis tárgyalása során a későbbiekben kerül sor.

Ki szeretnék még hangsúlyozni, hogy az összeállítás mintegy negyven egyetemi, illetve országos intézet, klinika és kutatóhely sokéves intenzív és kooperatív jellegű munkáját csupán tartalomjegyzékszerű tömörséggel sorolja fel. Az egyes eredmények a későbbiek során kerülnek majd szakfolyóiratokban referálásra.

A litoralon A-vitaminszerű farmakológiai és biokémiai hatásai

Növeli a jelzett szulfát beépülést patkány kardporcban, csirkeembrió szemlencséiben, máj-, tüdő- és csontszövetben, valamint patkány peritoneális hízósejtben. Elősegíti patkányban a chondroitinszulfát szintézist. Véd a patkányban előidézett experimentális lathyrismus tüneteivel szemben. Elősegíti az implantált vatta granuloma kifejlődését patkányban és fokozza az A-vitamin ilyen irányú hatását. Actinomycin-D-vel felfüggeszthető mind az A-vitamin, mind a litoralon ilyen irányú hatása. Elősegíti a sebgyógyulást és antagonizálja a kortizon sebgyógyulást gátló hatását patkányban és kutyában. Mérsékli a stressz ulcerogén hatását. Fokozza a hámosodást.

Befolyásolja a nyomelemháztartást patkányban: emeli a szérum szilícium, réz, cink és mangán koncentrációját, mérsékli a fluor- és kadmium-toxikózis tüneteit. Hatást gyakorol a szérum szabadzsírsav-tartalmára és a dózis függvényében emeli, vagy csökkenti azt. Fokozza patkány thymus szövet- és sejtenyészetben a thymocyták, valamint az epithelialis trabeculák növekedését és utóbbiak fascicularis elrendeződését. Véd az adrenalin thymusinvolúciót előidéző hatásával szemben. Fokozza makrofágokban a lizoszómák számát és méretét. Tuberculin és DNCB (dinitro-klórbenzol) bőrreakció-kiesés esetén hatására az elmaradt válasz újból megjelenik.

Patkányban fokozza a térdízületet alkotó csontok képződésének ütemét, az epifízis kalcifikációját. Ebihalak esetében mérsékli a csontosodást.

Emeli a szérum A-vitamin szintjét, potenciózza, illetve elősegíti az A-vitamin hatását experimentális A hypo-, illetve hyper-vitaminózisban, patkányban és csirkében.

Fokozza patkány peritoneális hízósejtek degranulációját. Nagy dózisban csökkenti a pajzsmirigy jelzett jódkötését és a szérum jódkoncentrációt. Emeli a véralvadási időt. Elősegíti a *Rana dalmatina* metamorfózisa során az ebihalak faroklysisét.

Elektronmikroszkópos vizsgálatok eredményei szerint aktiválja a Golgi-apparátust.

A litoralon A-vitaminszerű klinikai terápiás hatásai, illetve olyan kórképek, melyekhez hasonló tünetek experimentális A-hypovitaminózissal kiválthatók

☐ Exokrin mirigy dysfunkciók: keratoconjunctivitis sicca, Sjögren-syndroma, rhyno-pharyngo-laryngitis sicca, ozaena, galactorrhea, mastopathia fibrocystica, mucoviscidosis.

A bőr- és nyálkahártyák fokozott fertőzési hajlama: aphta recidivans, herpes recidivans, verruca plana juvenilis, candidiasis, gyermekkori bronchitis

chronica, sinobronchitis. Alkati pneumopathiák. Kedvező hatást gyakorol az íz- és szagérzés csökkent állapotára, a pruritusra és a kortizon által kiváltott perifériás kötőszöveti ártalmakra.

Nem A-vitaminszerű farmakológiai és biokémiai hatások

Patkányokon végzett kísérletek eredményei alapján megállapítható volt, hogy a hatóanyag átmeneti vércukor- és szérum-kalcium csökkenést okoz, fokozza a foszfaturiát, növeli a 800 R-rel teljestest-besugárzott patkányok túlélési idejét, csökkenti a célbajutási időt labirintkísérletekben. Csökkenti a vékonybélből a glukóz felszívódást. Parenterálisan adagolva akut kísérletben patkányban szignifikánsan emeli a plazma renin-szintjét.

Nem A-vitaminszerű klinikai terápiás hatások

Litoralonnal kedvezően befolyásolhatók voltak az alábbi kórképek: vitiligo, izomhypotonia, spondylosis ankylopoetica, scleroticus fundus és amyloidosis. Emellett azt találtuk, hogy pszichoenergetizáló hatással rendelkezik és kedvezően befolyásolja a mnesztikus funkciókat. S-35 jelzett litoralon autoradiográfiás vizsgálatok szerint gyorsan és tartósan kötődik a hámszövetekhez.

A litoralon dózishatásgörbéje hasonló az A-vitaminéhoz, lapos lefutású és nagy adagolás esetén hatáselőjel-váltás is bekövetkezhet.

Az A-vitamin széles körű élettani hatásaira vonatkozóan elsősorban összefoglaló kézikönyvekre és cikkekre utalunk [91, 142, 130, 6, 13, 11, 51].

II. A munkahipotézis filogenetikai alapja. A mellékpajzsmirigy kapcsolata a D- és A-vitaminnal

A litoralon felismerését és széles körű farmakológiai, biokémiai és klinikai terápiás hatásának felderítését jelentősen segítette egy filogenetikai és ontogenetikai megfontolásokon alapuló munkahipotézis [40]. Ennek megalkotásához az a tény adott indítékot, hogy a gerincesek evolúciója során a mellékpajzsmirigy kialakulása a szárazföldi gerincesek megjelenésével szorosan egybeesik. A halaknak még nincs mellékpajzsmirigyük, a kétéltűektől a főemlősökhöz és az emberig viszont már minden szárazföldi gerinces rendelkezik mellékpajzsmiriggyel [137, 8, 41, 50].

A mellékpajzsmirigy a pharyngealis epitheliumból fejlődött ki, ami a vízi életben még légzési funkciót teljesített. Feltételezhető volt tehát, hogy a mellékpajzsmirigy a szárazföldi életmódhoz való genetikai adaptáció nélkülözhetetlen eleme. Szerepe a szárazföldi gerinces életfeltételek biztosításához szükségszerűen kialakult szervek, szövetek, esetenként funkciók összességének — amelyet összefoglalóan Aerobioszferikus Genetikai Adaptációs Rendszernek (AGAR) neveztem el — endokrin irányítása.

Az AGAR alkotó elemei:

1. A bioszféra-változás által létrejövő nagymérvű felhajtóerő- és közegellenállás-csökkenés következtében szükségessé vált tartó és védő csontrendszer.

2. A szárazföldi helyváltoztatáshoz szükséges teherhordó gömbízületek, tartószalagok, ínhüvelyek, továbbá fokozottabb izomtónus és összetettebb mozgás-koordináció.

3. Légutak és tüdő.

4. A szárazföldi életmódhoz alkalmazkodó kültakaró és járulékos képletei. Fellép ugyanis a kiszáradás-, megnövekszik a sugárkárosodás-, fokozódik az ektodermális trauma veszélye és ennek következtében fokozottabb a mikrobiális fertőződés lehetősége.

5. A napszaki és évszaki nagyobb arányú hőmérséklet-ingadozáshoz, valamint egyéb meteorológiai változásokhoz való alkalmazkodás.

6. Az erőteljesebb stresszhatásokhoz való alkalmazkodó készség, másrészt védekezés az ezáltal létrejövő, túlságosan magas szérumszintű kortikoid szintek perifériás károsító hatásával szemben.

7. Az immun surveillance fokozódása. A szárazföldi gerincesek bonyolultabb szervezeti felépítése miatt a spontán szomatikus mutációk száma megnő, így a faj genetikai stabilitásának megőrzése céljából a „saját” és „nem saját” struktúrák közötti különbségtétel képessége fokozódik. A kórokozókkal szembeni fokozott védelmet igényelnek a szekretoros tevékenységet végző, a külső környezettel érintkező nyálkahártyák is.

8. Az aerobioszférához alkalmazkodó érzékszervek.

9. A megváltozott bioszférához igazodó ionreguláció. (A kopoltyú ionocitái helyett kizárólagosan a vese és vékonybél transzsepitheliális iontranszlokációjának biztosítása.) Az új légzésforma következtében a sav—bázis egyensúly fokozott biztosítása.

A szárazföldi élet kialakulásakor megjelenő mellékpajzsmirigy ismert hatóanyagának: a parathormonnak fő funkciói — ú. m. az osteolysis, valamint a vékonybél mikrovillusain és a vesetubulusokon keresztül történő transzsepitheliális kalciumfelszívódás és ürülés szabályozása — szoros összefüggésbe hozhatók az AGAR 1. és 9. pontban említett alkotóelemeivel. Ilyen módon a mellékpajzsmirigy ismert hormonja, a parathormon is a szárazföldi gerincesek genetikai adaptációját szolgálja. Biztosítja a fokozott kalciumszükségletet a reprodukciós időszakban (pl. hüllők és madarak méshéjú tojásai, magzati csontosodás, laktációs időszak), amikor is a parathormon elválasztás jelentősen fokozódik [111, 23, 99], másrészt az új légzésforma kialakulása teszi szükségessé a sav—bázis egyensúly fokozott biztosítását. A kopoltyú felületéről a széndioxid könnyen távozik a hidroszférában való oldódással, a tüdő felületéről ez nehezebben következik be, ugyanakkor védeni kell a szervezetet a hyperventillációs tetániával szemben is. A parathormon fokozza a vesén keresztül a hidrokarbonát ionok eltávolítását [97] és alapvetően hat a foszfátpufferrendszer célszerű kialakulására is [150].

A munkahipotézis szerint a parathormonnal összefüggésbe nem hozható AGAR elemek viszont a mellékpajzsmirigy eddig ismeretlen hatóanyagával: a litoralonnal kell, hogy kapcsolatban legyenek. Anélkül, hogy részletekbe bocsátkoznánk, kézenfekvőnek látszik az a megállapítás, hogy jól felismerhető párhuzam van az AGAR-nak a parathormonnal összefüggésbe nem hozható elemei, az A-vitamin-hatás jellege és a litoralon biológiai és terápiás hatásai között.

E kérdés megvilágítására említjük meg, hogy számos olyan kórkép és szindróma van, melyek tünetei csak az AGAR általános sérülésével hozhatók logikailag összefüggésbe. Vegyük szemügyre az egyik ilyen szempontból legjellegzetesebb kórkép, a Sjögren-szindróma tüneteinak totálképét:

Keratoconjunctivitis sicca.

Xerostomia.

Oesophagitis.

Rhino-pharyngo-laryngitis sicca.

Fokozott caries hajlam.

Parodontosis.

Tracheobronchitis sicca.

Sinusitis.

Eustachius-kürt dugulás, rekedt hang, vöröses belövellt hangszalagok.

Tüdőfibrózis, atelectasia. (Valószínűleg a tüdőalveolusok „surfactant” nedvesítő anyagának hiányán alapuló tünet.)

Faggyú- és verejétkmirigy hypofunkció.

Vulvovaginitis sicca.

Pigmentációs zavarok.

Achylia, atrophiás gastritis, pancreatitis.

Obstipáció. (A bélrendszer kehelysejtjeinek hypofunkcióján alapuló tünet.)

Urethritis.

Arthritis. (A synovialis folyadék termelésének zavarán alapuló tünet.) A paravertebralis kötőszövetek kalcifikációja.

Íz- és szagérzési zavarok.

Vese tubularis felszívódási zavarok. Diabetes insipidus, aminoaciduria, foszfaturia, renalis tubularis acidosis.

Izomgyengeség, izomhypotonia.

Immunchomeostasis zavar: hyperglobulinaemia, beta-microglobulinaemia, autoimmun megbetegedésekkel való kapcsolat, allergiára valló praedispozíció, autoantitestek jelenléte, lymphoreticularis neoplazia kialakulásra való hajlam.

Raynaud-kór.

Subfebrilitas.

Neuropathiák [59, 17, 112, 88].

A tünetek — melyeknek összessége természetesen sohasem fordul elő egy betegen — azt mutatják, hogy közös funkcionális eredete van látszólag igen különböző szöveteknek, illetve szerveknek. Ha a tüneteket csoportosítani kívánjuk, megállapíthatjuk, hogy a szindróma úgyszólván valamennyi exokrin mirigy funkcióját érinti. Ez mindjárt két következtetés levonását teszi lehetővé:

a) Az A-hypovitaminózis ugyanilyen mértékben érinti az exokrin mirigyek funkcióját.

b) A gerincesek szárazföldi életkörülményekhez való alkalmazkodásában kitüntetett szerepe van számos exokrin mirigy kialakulásának (könny-, nyál-, faggyú-, verejétkmirigyek, valamint a légutak és emésztő traktus nyálkatermelő mirigyei, a tüdőalveolusok „surfactant”-ot termelő sejtjei, a nemiszervek nyálkatermelő mirigyei stb.). Ez természetes is, ha meggondoljuk, hogy az ektoderma új bioszférával érintkező teljes felületének (bőrfelszín, kornea és konjunktíva, légutak és tüdő) védenie kellett az élőlényeket az aerobioszféra hidroszférától eltérő káros hatásaival szemben. (Kiszáradás, fokozott sugár- és hőhatás, száraz táplálék nyelése és emésztése, az ivaros szaporodás szárazföldi feltételeinek biztosítása stb.). Az exokrin mirigyek közül talán külön értelmezésre szorul a synovialis-hártya szekréciójának csökkenése, ami a rheumatoid panaszok oka Sjögren-szindróma esetében. Itt figyelembe kell ven-

nünk, hogy a víz felhajtóerejének megszűntével a teherhordó gömbízületek súrlódásmentes mozgása a szárazföldi életben alapvető fontosságot nyert. A Sjögren-syndroma emellett érinti a transzepitheliális transzportot is (tubularis reszorpciós zavarok), valamint a szárazföldi életben ugrásszerűen fejlődő immunapparátust is. Termoregulációs zavarok is megfigyelhetők, valamint a vázizomzat tónusz-zavara és neuropathiák. Az A-vitamin-hiány valamennyi felsorolt funkciózavart is képes kiváltani, beleértve az íz- és szagérzési zavarokat is.

Nem meglepő tehát, hogy a Sjögren-syndroma aetiopathogenesisének vizsgálata során STAHEL [128] már 1938-ban a kórkép létrejöttéért az A-vitamin-hiányt tette felelőssé. Ő, tartós, természetes eredetű A-vitamin koncentrátum kezeléssel betegén az alábbi javulásokat észlelte: láztalanság, az íz- és szagérzési zavarok, a rekedtség megszűnése és a hangszalagok feltisztulása, a száraz köhögés, a székletszorulás, az urethra és a vagina égő fájdalmának megszűnése. A beteg meglepődéssel tapasztalta, hogy újra izrad. A szemében az idegtest-érzés megszűnt. Elmondottakkal kapcsolatosan megjegyezzük, hogy STAHEL eredményei kivételesek a Sjögren-syndromának A-vitaminnal történő eredményes kezelésében. Ennek oka a készítményben levő esetleges bioaktív A-vitamin metabolitok jelenléte lehetett. A Sjögren-syndroma tünetei normális, illetve többlet A-vitamin-ellátottság esetén is kifejlődnek, aminek oka az A-vitamin metabolizmus zavarában keresendő. Az a tény, hogy a Sjögren-syndroma tünetei litoralon kezeléssel bizonyítottan kedvezően befolyásolhatók (a reumás panaszok is), azt feltételezi, hogy a kórkép létrejötté vagy az A-vitamin metabolizmus közvetlen zavarával, vagy a litoralon-termelés zavarával függhet össze, vagy pedig elsősorban a menopauzában kifejlődő kórképeknél (ez a leggyakoribb), elsősorban a hipofízis-gonadotropinok elválasztási zavarának következménye, melyek feltehetően litoralon antagonistá hatással rendelkeznek. Figyelmet érdemel itt az a megfigyelés, hogy hipofízis implantációval a Sjögren-syndroma kezelése esetében jó eredményeket értek el [10]. Valószínűsíthető, hogy az a mai felfogás, mely szerint a Sjögren-syndroma autoimmun kórereditű megbetegedés, revízióra szorul. A kétségtelen immunháztartási zavarok másodlagosan fejlődnek ki és egyébként sem magyarázzák a megbetegedés lényegét.

Annak lehetőségét, hogy a mellékpajzsmirigy a parathormonon kívül egy másik bioaktív anyag termeléséért is felelős, több kísérleti tapasztalat is alátámasztja. Ezek a következők:

a) TREMBLAY és mtsa. [134] 1959-ben a mellékpajzsmirigy szövetekben már régebben kimutatott oxyphyl sejtek tüzetesebb vizsgálata során megállapította, hogy azok mitokondriumokban igen gazdagok és erős oxidatív tevékenységet fejtenek ki. Minthogy függetlenek a kalcium háztartás szabályozásától (az oxyphyl sejtek hyperpláziája, illetve tumora nem jár a hyperparathyroidismus ismert tüneteivel), feltételezték eddig ismeretlen endokrin szerepét. Azóta ennek lehetsége mások részéről is felmerült [53].

b) A mellékpajzsmirigy extraktum számos élettani hatása különbözik a tiszta parathormontól, illetve a különböző módon készült extraktumok között is két jellemző hatás viszonyában (szérum kalcium-szint emelő és foszfaturias hatás) eltérések tapasztalhatók. HIATT és mtsa [56], valamint WIDROW és mtsa [147] a vese vérátáramlásában és a glomeruláris filtráció mértékében találtak emelkedést, ezzel szemben tisztított parathormon felhasználásával AGUS és mtsai [2] ilyen hatást nem tudtak kimutatni. STEWART és mtsa [129] azt ta-

pasztalta, hogy a mellékpajzsmirigy extraktumok formaldehides kezelés után kalcium-aktivitásukat elvesztették, míg az extraktum foszfaturiás hatása megmaradt. ZIEGLER és mtsai [158] néhány gyógyszergyár parathyreoidea készítményét vizsgálták és azt találták, hogy azok a kalcium-aktivitásukhoz viszonyítottan eltérő foszfaturiás hatást mutatnak. Ez utóbbi hatás ACTH-val és kortizonnal ellensúlyozható volt. (A litoralon a szérum kalcium szintet gyengén csökkenti és foszfaturiás hatással rendelkezik.)

MCCREDIE és mtsai [84] legújabb vizsgálataik alapján azt találták, hogy mellékpajzsmirigy extraktum (E. Lilly, USA) i. v. adagolása kutyán gyors és szignifikáns plazma-renin aktivitás növekedést okoz, míg tisztított parathormon készítmény (700 gamma/mg) nem mutatott ilyen hatást. Vegytiszta litoralon 0,1 $\mu\text{g}/\text{tskg}$ i. v. adagolásával patkányban gyors és szignifikáns plazma-renin-szint emelkedést találtunk, így az extraktumban levő ismeretlen kísérő anyagot sikerült azonosítani.

c) Hypoparathyroidismus esetén számos olyan tünet található, mely nem hozható összefüggésbe a kalcium homeostasis zavarával, ugyanakkor a tünetek A-vitamin metabolizmus-zavarra emlékeztetnek. Ilyenek: a bőr- és nyálkahártyák fokozott fertőzési hajlama, hyperkeratosis, rekedtség, látási, szaglási és ízérzési zavarok, papilloedema és pigmentációs zavarok [105, 149, 55, 45]. Emellett hypoparathyroidismusban megfigyelhető a transzepithelialis transzport zavara is, mint pl. malabsorptio és cystinuria [136, 19].

A parathormon D-vitaminszerű hatásjellegét, valamint a litoralon A-vitaminszerű hatásjellegét a kísérleti tényeken alapuló munkahipotézis alapján a következő módon értelmezhetjük: arra vonatkozóan, hogy a D_3 -vitamin poláros karakterű metabolitja: az 1,25-dihidroxi- D_3 egy hormonnak tekinthető vegyület, amely szteroid hormonális hatásmóddal rendelkezik, ma már a vélemények egyetértőek [133, 103]. Génaktiváló, DNS-transzkripciót kiváltó hatását az alábbi tények igazolják:

- a) Kezdetben cytosol receptorhoz kötődik.
- b) Csontreszorpciós hatása felfüggeszthető Actinomycin-D-vel.
- c) Fokozza a ^3H -timidin DNS-be való beépülését.
- d) Stimulálja a calcium binding protein szintézisét.

A felsorolt hatásokkal a D_3 -vitamin is rendelkezik, ez azonban éppen metabolizálódásának következménye (b, c, d) [133, 103]. Az A-vitamin mind a b) [113, 155], mind a c) [156, 64] pontban ismertetett hatással rendelkezik. Igazolt az A-vitamin fehérjeszintézist befolyásoló transzlációs szintű hatása is [34].

Fenti kísérleti tények alapján feltételezhető egy A-vitamin metabolit hormon létezése is. E feltételezést támasztja alá az A-vitaminnak a mastocytá degranuláció fokozására kifejtett hatása is [127], mely ugyancsak génaktiváción, transzkripción alapul [31].

Vizsgálataink szerint a litoralon az A-vitaminnal azonos módon segíti elő a mastocyták degranulálódását. Ez a tény, valamint a litoralon szérum A-vitamin-szintet emelő, A-vitamint potenciózó hatása valószínűsíti a litoralon szerepét az A-vitamin metabolit hormon és a retinol binding protein (RBP) képzésében. Ezt látszik alátámasztani, hogy a litoralon hatása — hasonlóan az A- és D_3 -vitaminhoz — Actinomycin-D-vel felfüggeszthető (lásd hatástani összeállítást). Ez utóbbi lehetőség mellett szól még a litoralon kedvező klinikai hatása olyan megbetegedésekben, ahol az RBP-képzés zavarát már sikerült igazolni, mint pl. mucoviscidosisban [125] és retinitis pigmentosában [82].

A mucoviscidosis társulhat tipikusan A-vitamin hiánytünetekkel, mint pl. anosmia, conjunctiva- és cornea xerosis, hemeralopia, ataxiás zavarok stb. [72] és mellékpajzsmirigy hypofunkcióval is [86]. Itt említjük meg, hogy krónikus máj-megbetegedéseknél jellegzetes szemészeti A-vitamin hiánytünetek állapíthatók meg: sötét adaptációs hiány, színlátási és fúziós frekvencia zavarok. Ezek a tünetek A-vitamin kezeléssel nem befolyásolhatók, így ebben az esetben is RBP-szintézis zavarról, vagy egyéb A-vitamin metabolizmust érintő zavarról lehet szó [67].

A retinitis pigmentosa ugyancsak számos olyan szindrómával társul, ahol tipikus A-vitamin hiánytünetek mutathatók ki. Ilyen pl. a Refsum-szindróma, az alábbi tünetekkel:

- retinitis pigmentosa
- hemeralopia
- ichthyosis vulgaris
- krónikus perifériás polyneuritis
- cerebellaris ataxia
- nystagmus
- sensorialis sükettség
- anosmia
- testis atrophia
- a liquorban nagy az összfehérje-tartalom és sejtszám
- izomgyengeség.

A megbetegedésre jellemző a phytan isoprenoid származék (tetrametil-hexadekánsav) felhalmozódása [107, 49]. Megjegyzendő, hogy az A-vitamin befolyásolja az isoprenoidok szteránvázas vegyületekké való átalakulását [151, 154]. A-vitamin túladagolás esetén a vérkoleszterin szint emelkedik [70].

A parathormonnak a D₃-vitamin metabolizmus irányításában való részvétele mellett — az indirekt szérumszféra szabályozáson [132] túlmenően — számos más tény is szól. Figyelemre méltó például, hogy szövettenyészetben a parathormon csontreszorpciós hatása is felfüggeszthető Actinomycin-D-vel [42, 113], valamint, hogy az osteoclastokban parathormon hatására is erős RNS-szintézis indul meg [104] és hogy D₂-vitamin adása, mely önmagában csontszövetkultúrában a csontreszorpcióra nem hat, potenciózza a parathormon ilyen hatását [48, 114]. A parathormonnak a D₃-vitamin egyéb, az 1,25-dihidroxi-D₃ metabolitnál polárosabb karakterű származékaira [16, 44] kifejett hatása ez ideig nem ismeretes.

Az 1,25-dihidroxi-D₃ képzésre kifejett szuverén parathormon hatást [33] a kísérleti tények mellett azon elméleti megfontolás is kizárja, hogy a 25-hidroxi-D₃-1-alfa-hidroxiáz enzim már a csontos halak veseszövetében is megtalálható [103], melyek pedig nem rendelkeznek mellékpajzsmiriggyel. Figyelemre méltó viszont, hogy a csontos halak 25-hidroxi-D₃ parenterális adagolásra nem reagálnak szérumszféra emelkedéssel [24].

Fentiekből megállapítható, hogy a parathormon modulálja a D₃-vitamin és hormonjainak hatását és befolyásolja, de nem kizárólagos jelleggel e vitaminhormon hatását. Egyéb, polárosabb karakterű D₃-vitamin metabolitokra kifejett hatása még nem tisztázott.

Az A-vitamin eddig ismeretlen bioaktív metabolitjaival, illetve egy A-vitamin hormon esetleges létezésével számos kutató foglalkozott már a 60-as évek előtti időszakban is. Erről röviden az alábbi összefoglalást adjuk:

LE GALLIC [76] patkányokban, különböző időpontokban indított A-vitamin-hiányos diétával hiánytüneteket idézett elő. Azoknak a patkányoknak a vére, melyek még nem mutattak hiánytüneteket, de vérük már nem tartalmazott A-vitamint és karotint, fel tudta függeszteni a korábban A-vitamin hiányos tápon tartott patkányok hiánytüneteit. Ugyancsak megállapítást nyert, hogy a szalonna egy A-vitamin hatású anyagot tartalmaz, ami nem azonos az A-vitaminnal és amit „lard factor”-nak neveztek el. RANDOIN és LE GALLIC [115] ezekből a megfigyelésekből már 1948-ban azt a következtetést vonta le, hogy a karotin és A-vitamin egy „A-vitamin hormonális faktor”-on keresztül fejt ki hatását az állati szervezetben.

DUBOULOZ és mtsai [39] A-vitamint tartalmazó ételek tartós tárolása során — bár azokból oxidáció következtében A-vitamin és karotin már a leggondosabb vizsgálatokkal sem mutatható ki — gyenge A-vitamin hatást tudtak kimutatni biológiai meghatározások alapján.

Az A-vitamin bioaktív metabolitoknak a szárazföldi gerincesek szervezetében folyó képződésével számos kutató foglalkozott az elmúlt másfél évtizedben is [152, 37, 131, 119, 157, 153, 6, 79, 85, 130, 36, 116]. A vizsgálatok alapján megállapítást nyert, hogy az A-vitamin (retinol) a retinalon és retinolsavon keresztül metabolizálódik egy további bioaktív, polárosabb karakterű, oxigénben gazdagabb, eddig még pontosan nem definiált metabolittá [157, 153]. Valószínűsíthető, hogy *in vitro* egyes esetekben csak az A-vitamin metabolitja fejt ki hatást [131, 119]. A litoralon A-vitamin metabolizmusában feltételezett szerepének további alátámasztását adja, hogy a Sjögren-syndromában tárgyaltakon túlmenően azok a klinikai megbetegedések, melyek analogjait experimentális A-hypo-, illetve avitaminózisban ki lehet váltani (pl. keratoconjunctivitis sicca, laryngo-pharyngitis sicca, ozaena, fokozott ektodermális fertőzési hajlam stb.), A-vitamin adagolásra nem, vagy alig, litoralon kezelésre pedig jól reagálnak. Ezek a körképek tehát az A-vitamin metabolizmus zavarával (transzport vagy átalakulás) hozhatók csak összefüggésbe. A litoralon terápiás hatása kis dóziszú — önmagában hatástalan — A-vitamin egyidejű adásával fokozható (pl. rhino-pharyngitis sicca).

Előzetes litoralon-kezelés után patkány bélnyálkahártyájából olyan víz- és éteroldható koncentrátumot nyertünk, mely a kezeletlen állatok hasonló koncentrátumához viszonyítva szignifikánsan erősebben fokozta *in vitro* patkánykardporcban a jelzett szulfát beépülést. Az anyag fizikai és fiziológiai alaptulajdonságai eszerint egyeznek a feltételezett poláros karakterű víz- és éteroldható A-vitamin metabolittal. (A litoralon éterben, az A-vitamin és kevésbé poláros származékai pedig vízben oldhatatlanok.) Patkánybél nyálkahártyából egyébként az utóbbi időben sikerült egy új retinol oxidáló enzimet izolálni [130]. Patkány veseszövet tenyésztésben litoralon adagolás hatására a rendszerhez adott A-vitamin mennyisége a kontrollhoz viszonyítva szignifikánsan változik. (Trifluorecetsavas kromogénnel mérve nő, fluoreszcenciás módszerrel meghatározva pedig csökken.) E vizsgálatok is az A-vitaminnak a litoralon hatására bekövetkező struktúra változása mellett szólnak. McLAREN [85] A-vitamin monográfiájában ezt írja: „Rejtélyes tény, hogy az A-vitamin fluoreszcenciát nem lehet kimutatni a konjunktívában és korneában még hypervitaminosis állapotban sem. Ez a paradoxon talán azzal magyarázható, hogy az A-vitamin olyan formában van jelen, amely nem adja a karakterisztikus fluoreszcenciát. Az A-vitaminnak az a formája, amely celluláris szinten aktív, ez ideig ismeretlen.”

III. A polién származékok celluláris szintű biomembránpermeabilitást befolyásoló hatása és biokémiai evolúciójuk. A lizoszomális labilizátorok és immunhomeostasis

A litoralon és A-vitamin közötti hatásanalógia alapján e fejezetben kívánjuk megvilágítani a litoralon transzsepitheliális transzportra (nyomelemháztartás), valamint immunhomeostasisra kifejtett hatásának felderítését. Mint majd látható lesz, az evolúció a szárazföldi élethez való genetikus adaptáció során a retinoidok ezen — már a vízi életben meglévő — élettani hatását kellett hogy továbbfejlessze oly módon, hogy e hatások a szárazföldi életben neuroendokrin irányítás alá kerültek, a mellékpajzsmirigy közvetlen segítségével. Ily módon a polién struktúrák, pontosabban retinoidok biokémiai evolúciója (metabolizmusuk fejlődése) a gerincesek életében egy ugrásszerű változás létrejöttét segítette elő, azok szárazföldre lépésével egyidőben.

Az A-vitamin iontranszlokációs, membránpermeabilitást befolyásoló hatása a vörösvérsejtek Na- és K-transzportjának befolyásolásában vált leginkább ismeretessé [81]. Az A-vitamin ilyen irányú hatásán alapszik az édesvízi halakban az A₁- és A₂-vitamin arányának az A₂-vitamin irányban történő eltolódása, melyet a branchialis epithel permeabilitásának az édesvízhez történő adaptációjával magyarázhatunk [138, 140, 98].

E fejezetben először az A-vitaminszerű struktúrák ilyen irányú hatását szeretnénk megvilágítani a biokémiai evolúció szempontjából.

Az A-vitamin és származékainak molekuláris hártályakra kifejtett felszínaktív tulajdonságai WASSERMAN és mtsa [142] megállapítása szerint párhuzamosak a biomembránokra kifejtett hatásukkal. A retinol behatol a lecitinkoleszterin monomolekuláris hártályába és azt szétteríti a levegő—víz határfelületen. Ez az *in vitro* kolloidfizikai modell jól szemlélteti a poliének és retinoidok biomembrán-permeabilitást befolyásoló hatását.

LAMPEN és mtsai [75] vizsgálatai szerint az A-vitamin struktúrához hasonló polién antibiotikumok ugyancsak beépülnek a biomembránok lipid rétegébe és megváltoztatják annak molekuláris elrendezését és ezzel változtatják permeabilitását.

GALE [43] polién antibiotikumok fungicid hatását vizsgálva *Candida albicans*-on megállapította, hogy a mikroorganizmusok szuszpenziójához amphotericin-metilésztert adva, fokozódó káliumkiáramlás figyelhető meg a sejtekből. Az antibiotikum ezen hatása csökken a kultúra növekedésével és minimumát a növekedés stacionárius fázisában éri el. Eger LS fibroblaszt kultúrája harmincszor kevésbé érzékeny az amphotericin-metilészter, az amphotericin-B és a nystatin hatására, mint a *Candida albicans*, ezzel szemben filipinre érzékenyebb. Különböző szterinek antagonizálják a polién antibiotikumok fenti hatását. Leghatásosabb a zymoszterin, utána az ergoszterin és legkevésbé a koleszterin.

Szerző ezzel magyarázatát tudja adni, hogy a polién antibiotikumok miért fungicid hatásúak és miért nem rendelkeznek baktericid hatással. Az antagonizmus szempontjából leghatásosabb szterinek: a zymoszterin és ergoszterin, ugyanis a gombák sejthártályában találhatóak, míg a baktériumok sejthártályában a koleszterin.

A polién antibiotikumok sejtmembránok permeabilitására kifejtett hatása függ a polién kettőskötések számától, a laktongyűrű nagyságától, illetve a molekulásúlytól.

Így a kisebb molekulák általánosabb sejtmembránkárosodást okoznak, míg a nagyobbak szelektívebb hatásúak. A viszonylag kisebb molekulasúlyú filipin például kálium-, szervesen foszfát-, aminosav- és szorbóz-, a nystatin csak kálium- és szervesen foszfát-, míg a succinylperimycin csak káliumszivárgást okoz [74, 14].

NIELSEN [102] magasabb rendű élőlényeken vizsgálta a polién antibiotikumok ionpermeabilitást befolyásoló hatását. Megállapította, hogy polién antibiotikumok (amphotericin-B és filimarisin) megszüntetik az aldosteron által kiváltott aktív nátrium-transzport gátlását izolált békabőrön. Az aldosteron visszaállítja a bőrön keresztüli elektromos potenciált, melyet a polién antibiotikumok csökkentettek. Szerző véleménye szerint mindkét típusú hatóanyag befolyásolja (nyitja, illetve zárja) a stratum corneumon elhelyezkedő ionpermeabilitást szabályzó peccéteket. CRABBÉ [28] amphotericin-B-vel az aldosteron aktív, nátrium transzportot kiváltó hatását csökkenteni tudta. HSU CHEN és mtsa [58] vizsgálatai szerint amphotericin-B az emberi vörösvérsejt membránpermeabilitását jelentősen változtatja és megfelelő koncentrációban *in vitro* haemolysist okoz.

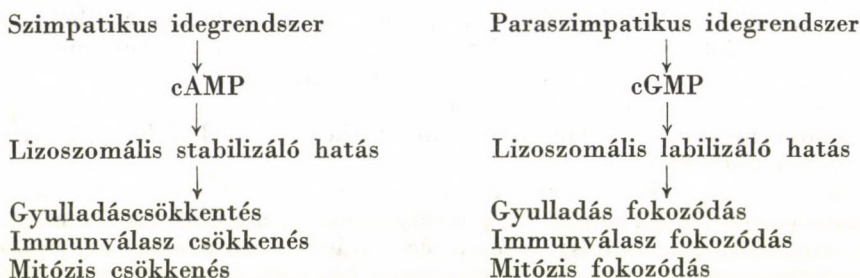
Az A-vitamin, illetve azzal analóg polién antibiotikumok ionpermeabilitást befolyásoló hatása azonos hatásmechanizmuson alapszik, mint a szubcelluláris membránpermeabilitást befolyásoló hatás. A lizoszomális szivárgást, a lizoszomális enzimek felszabadulását előidéző beavatkozás egyébként befolyással van a sejtosztódásra és ezzel az antikarcinogén hatás kiváltására is.

Elmondottakat igazolják SHAMBERGER [124] vizsgálatai, aki polién antibiotikumokkal (pl. filipin) mind a dimetilbenzantracénnel, mind a krotonolajjal indukált tumorok számát egérben szignifikánsan csökkenteni tudta, méghozzá az A-vitaminnal azonos mértékben. Ugyanebben a kísérletben mind a filipin, mind az A-vitamin hatására nőtt a savanyú foszfatáz és arilszulfatáz lizoszomális enzimek mennyisége is, ellentétben a hydrocortison és chloroquin hatásával. Ugyanakkor a lizoszomális stabilizátor hydrocortison és chloroquin az experimentális tumorok számát szignifikánsan növelte. Itt jegyzem meg, hogy DIENGDOK és mtsa [35] azt találták, hogy phytohaemagglutinin hatására a humán perifériás lymphocyták szövettenyésztésében a lizoszómák száma és mérete szignifikánsan megnövekszik. Ez a változás megelőzi az RNS szintetizálódását és a mitózis megindulását. Oxazolonnal és tuberculinnal szenzibilizált patkányok nyirokesomó lymphocytáiban hasonló jelenség volt megállapítható. Ugyanakkor közismert tény, hogy a lizoszomális stabilizátor gyulladásgátlók (pl. kortizonszármazékok) csökkentik az immunválaszt, gátolják az antigéntermelést és különböző fertőzésekre hajlamosítanak.

WANG és mtsai [141] azt igazolták, hogy egérmáj lizoszómákból az A-vitamin és analógjai beta-glukoronidázt, N-acetil-beta-glukozaminidázt és egyéb hidrolázokat szabadítanak fel. Ez a hatás chloroquinnal és cAMP-al felfüggeszthető volt. BOURNE és mtsai [15] kísérleti tényekre épült elméleti cikkükben megállapítják, hogy a cAMP—cGMP mérleg szabályozza az immunhomeostasiszt és sejtosztódást. Ezt a megállapítást a legutóbbi időben WATTSON [143] kísérletesen is igazolta. Néhány vasoaktív hormon szabályozza a gyulladással és immunreakciók jellegét és intenzitását, melyek ciklikus nukleotidfüggő folyamatok. A cAMP az inhibitor anyag, mely gátolja a hisztamin kibocsátást és immunválaszt, míg a cGMP ellentétesen hat. A cGMP és a kolinergiás hatású anyagok fokozzák a lizoszomális hidrolázok kiválasztását a fagocitákból is. A blasztosodás kiváltásában is cGMP hatás érvényesül priméren.

A mastocyták sok tekintetben lizoszómákként viselkednek. Így pl. a cGMP nemcsak a lizoszomális hidrolázok kibocsátását fokozza, hanem a mastocytákból történő, IgE által szabályozott gyulladásokeltető anyagokét is [15]. A lizoszomális labilizátor A-vitamin és litoralon elősegíti, míg az ezekkel antagonista kortizon és tiroxin gátolja a degranulálódást [120].

Mind a lymphocyták, mind pedig a neutrofil sejtek és hízósejtek béta-adrenerg receptorokkal is rendelkeznek. A szimpatikus és paraszimpatikus idegrendszer az immunválasz kialakulásában kontrollszerepet tölt be. A legújabb vizsgálatok és elméleti megfontolások alapján tehát az immunhomeostasis szabályozásában az alábbi séma fontos szerepet tölthet be:



A litoralon fenti vázlat szerint az immunhomeostasisra kifejtett hatása szempontjából paraszimpatikus idegrendszert befolyásoló, kolinerg anyag. Természetesen ez a megállapítás semmiképpen sem jelenti azt, hogy a litoralon a paraszimpatikus ingerlő anyagok sorába tartozna farmakológiai értelemben. Érdekes azonban, hogy mind a litoralon, mind az A-vitamin, melyek lizoszomális labilizátorok és antiimmunenergias hatású szerek, egyben általános exokrin mirigy szekréciót fokozó hatással is rendelkeznek, hasonlóan a paraszimpatikus izgatókhoz. Alapvető különbség azonban itt, hogy sohasem okoznak hyperszekréciót, csupán — hasonlóan az immunhomeostasisban kifejtett hatásukhoz — dysfunkciós állapotokat normalizálnak. Filogenetikai nézőpontból fontos, hogy a litoralon immunhomeostasis befolyásoló hatása elsősorban abban a rendszerben érvényesül, mely a szárazföldi gerinceseknél fejlődött ki és a halakban még nem fordul elő (gyulladásos reakciók, IgE, IgA és szekretoros IgA hatás, nyirokcsomókra, csontvelőre kifejtett hatás, a polymorphonuclearis leukocyták fokozott fagolizozóma-termelése) [27]. Emellett a vizsgálatok alapján a thymusra, lépre kifejtett aktiváló hatások is ismertek a litoralon immunológiai hatásspektrumában, melyek a mellékpajzsmirigy kialakulása előtti időszakban is jelen voltak a vízi gerincesekben.

A litoralon kedvező hatása immunenergias állapotokban ugyancsak A-vitamin metabolizmust befolyásoló, lizoszomális labilizátor hatásával van összefüggésben. Úgy látszik, hogy a litoralon radioprotektív hatása is — legalábbis részben — ezzel a hatásával lehet szoros kapcsolatban, mert litoralon előkezelés hatására röntgenbesugárzott patkányok immunrendszerében nincs hypoplázia.

Az A-vitamin immuntoleranciát kivédő [7], komplementképző [12], adjuváns [38], fertőzésekkel szemben védő [26], az immunválasz kialakulásával szemben kortizon antagonista [25], valamint rosszindulatú daganatok kialakulását gátló [123] hatásával számos cikk foglalkozik a szakirodalomban.

A-vitamin-hiányban az immunrendszer általános sérülése közismert és különböző fertőzések okozzák rendszerint az A-vitamin-hiányban szenvedő állatok pusztulását [146]. Leginkább gastroenteralis, urogenitalis, és respiratorikus eredetű fertőzések alakulnak ilyenkor ki, a szervezet jelentősen lecsökkent védekező mechanizmusa következtében.

Csökken a nyirokcsomókban és a lép Malpighi-testjeiben a lymphocyták száma és azok, valamint a Kupfer-sejtek fagocitáló képessége. Antitestek hatására nagyon lassan emelkedik a leukocyták száma és már kezdeti A-vitamin-hiányban jelentősen zuhan a lymphocyták száma a vérben, mely A-vitamin adagolásra ismét rendeződik [94].

Már korai A-vitamin hiánytűnet a properdin-szint csökkenése, madarak esetében pedig a bursa Fabricii szövettanilag is kimutatható károsodása [6]. A-vitamin-hiányban csökken a könny lysosimtartalma [4].

Az A-vitamin és polién antibiotikumok hatását emberen a transzepitheliális transzport befolyásolása szempontjából az alábbiakban foglaljuk össze:

Nagy adag A-vitamin emberen papilla oedemát és a cerebrospinalis liquor mennyiségének felszaporodását okozza. Csecsemőkön ez a hatás hydrocephalust okozhat, mely benignus, és a tüneteket az A-vitamin túladagolás megszüntetése elmulasztja (Marie-Sée syndroma).

Az A-vitamin hatására bekövetkező liquortermelés-fokozódást minden valószínűség szerint epitheliális permeabilitás-fokozódás okozza. A liquort ugyanis a III-as és IV-es agykamrák plexus chorioideusa termeli azért, hogy a plexusok bolyhainak egyrétegű laphámján a kapillárisokból kilépő liquor áthalad. A liquortermelés tehát a transzepitheliális transzportfunkciók közé sorolható [57].

MADDOUX és mtsai vizsgálatai alapján a cerebrospinalis folyadék abszorpciója változik meg a membránstruktúra változása miatt az A-vitamin túladagolás következtében [80].

Hydrocephalust, illetve fokozott agynyomást — mint láttuk — egyébként nem csak A-hypervitaminosis, hanem A-hypovitaminosis [89, 90] és hypoparathyroidismus is előidézi [149, 45].

A polién antibiotikumok egyébként az emberi transzepitheliális transzportra is hatást fejtenek ki, lényegében teljesen azonos hatásmechanizmus alapján, mint az egysejtű gombák sejtfalára, illetve békák bőrére. Az amphotericin-B polién antibiotikumnak jól ismert káros mellékhatása, hogy emberen hypokalaemiát okoz a vesetubulusokra kifejtett hatása következményeként [47].

Ezzel analóg hatást vizsgált kételtűeken LICHTENSTEIN és mtsai [77] és megállapította, hogy az amphotericin-B békák húgyhólyagjának permeabilitását is befolyásolja. PIETRAS és mtsai [110] kételtűek húgyhólyagjának permeabilitásváltozását antidiuretikus hormon (ADH) hatására vizsgálva megállapították, hogy azok az epitheliális sejtek reagálnak a hormonnal, melyek lizoszómában gazdagok. A hormon hatására ilyenkor a lizoszómák az epitheliális sejtek apicalis membránja felé vándorolnak és azzal összeolvadnak. Ez a jelenség együtt jár a lizoszomális hidrolázok citoplazmába történő fokozott emissziójával (savanyú foszfatáz, beta-glukuronidáz, cathepsin-B). Lizoszomális stabilizátorral ez a jelenség mérsékelhető és ugyanígy a transzepitheliális víztranszport mértéke is, valamint az ADH-ra bekövetkező fokozott membránvezető képesség is. Hasonló lizoszomális hatást vált ki kételtűek húgyhólyag-epitheliumán az oxytocin és cAMP adagolása is.

Összefoglalóan tehát megállapíthatjuk, hogy a polién vegyületek transz-epitheliális transzportra és lizoszomális membránra kifejtett hatása részben az ionháztartást befolyásolja, részben a lizoszomális enzimek emisszióját. A diuretikus hatást illetően kapcsolat látszik a transzepitheliális transzport és lizoszomális labilizáló hatás között. Valószínűsíthető, hogy ez a kapcsolat lényegesen szélesebb körű.

A lizoszomális enzimek emissziója fokozza a gyulladást, elősegíti az immunválaszt és a sejtosztódást. Befolyással van tehát az immunenergiás állapotokra és a karcinogenesisre. Fokozódik a fagocitáló készség is és a „saját”, „nem saját” sejtek felismerésének képessége. A polién származékok közül az immunhomeostasisra kifejtett kedvező hatás szempontjából legismertebbek a retinoidok, így elsősorban az A-vitamin. A litoralon, mint az A-vitamin metabolizmust befolyásoló bioaktív anyag, hatásában nagymértékben hasonlít a retinoidok, illetve az A-vitamin ilyen irányú hatásához. Fel kell tehát tételezni, hogy a litoralon nyomelelmháztartást (Si, Zn, Cu) és immunhomeostasis befolyásoló hatása is az A-vitamin metabolizmus befolyásolásán keresztül érvényesül. Mindkét funkció kialakulását egyben a gerincesek szárazföldre lépése is megkövetelte.

Figyelmet érdemel, hogy az A-vitaminhoz hasonló struktúrájú polién antibiotikumok már az egysejtűek celluláris elektrolit-, illetve nem elektrolit-permeabilitására hatnak, amellet lizoszomális labilizátorok és antikarcinogén hatású anyagok is, így a polién vegyületek a biokémiai evolúciónak olyan ősi anyagai, melyek a szűkebb értelemben vett poliénekhez: a retinoidokhoz hasonlóan mind a cellularis, mind a subcellularis biomembrán permeabilitást befolyásolni tudják.

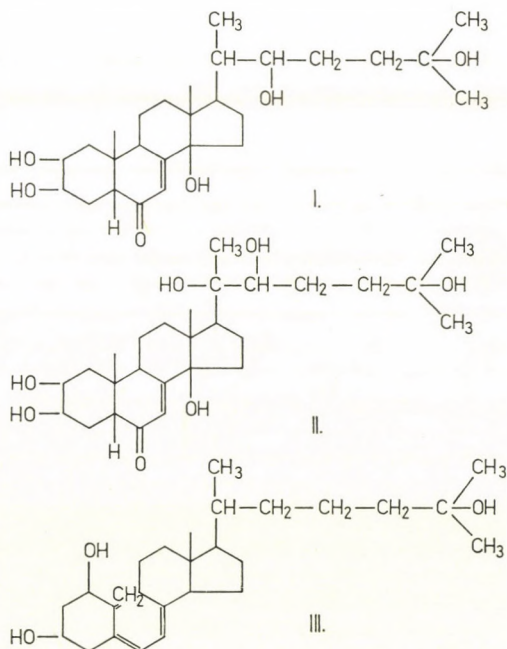
IV. A metamorfózis folyamatát befolyásoló isoprenoid struktúrák a biokémiai evolúció tükrében és kapcsolatuk a mellékpajzsmirigy által modulált isoprenoid vitamin hormonokkal

A kétéltűek ontogenezisének a hormonok és lipidoldékony vitaminok metabolizmusának szemszögéből történő vizsgálata felveti a metamorfózis és a biokémiai evolúció közötti kapcsolat tanulmányozásának szükségességét is. E kérdés megközelítéséhez a biokémiai evolúció néhány jellemző tulajdonságát kell először figyelembe vennünk.

A biokémiai evolúció rendkívül konzervatív és az új feladatok ellátásához a régi kémiai struktúrákat használja fel és azokra rétegződve, azokat tovább alakítva módosítja azokat. A biokémiai evolúció tehát nem keres merőben új kémiai utakat. Ezen megállapításra számos példát lehetne felsorolni, de talán elegendő, ha a nukleotidok általános szerepére gondolunk a genetikai kód, a makroerg foszfátkötés kialakítása, a hormonhatás és sejtnövekedés modulálása (cAMP, cGMP), valamint egyes életfontosságú enzimek képzése terén, vagy egyszerűen csupán arra, hogy a földi élet egysejtűekből történő kialakulása óta a fehérjéknek, szénhidrátoknak, zsíroknak és nukleotidoknak alapvető és általános, az élet biztosítása számára meghatározó szerepük van. Ilyen megfontolások alapján megengedhetőnek látszik a metamorfózis fogalmán az egész földi életre történő kiterjesztése: eszerint metamorfózisnak nevezzük azt a jelenséget, amikor az élőlények a tartós, vagy periodikusan ismétlődő környezetváltozásokra egyszer vagy periodikusan úgy adaptálódnak.

nak, hogy az egyúttal jelentős, vagy jól észlelhető forma- vagy egyéb külső tulajdonsági változásokkal is jár. Ilyen tág meghatározás értelmében tehát metamorfózisnak tekinthetők a kétéltűek szárazföldi életfeltételekhez történő egyszeri és irreverzibilis transzformációján kívül nemcsak az ezzel lényegében azonos rovar-metamorfózis szakaszok (báb, imago), hanem a rákok, hüllők, madarak és emlősök vedlése, sőt még a magasabb rendű növények évszakoktól függő periodikus lombhullatása is. A metamorfózisnak ezen utóbbi, átfogóbb meghatározása — mint az alábbiakban majd látható — a biokémiai evolúció szempontjából valóságos, tehát az élet által definiált megfogalmazás. Azoknak az anyagoknak a kémiai szerkezete ugyanis, melyek metamorfogenetikus hatással rendelkeznek, jelentős részben A-, illetve D-vitamin metabolitokhoz hasonlóak. A kémiai szerkezeti hasonlóságok olyan nagymérvűek, hogy itt a véletlenszerűség lehetősége kizárható. A lipoidoldékony A- és D-vitamin metabolitok képződését — mint láttuk — a szárazföldi gerincesek szervezetében branchialis eredetű hormonok (mellékpajzsmirigy és pajzsmirigy) modulálják, így ezek a hormonok is éppen ezen az úton vesznek részt a kétéltűek metamorfózisának regulálásában. Vegyük szemügyre most közelebbről e kémiai szerkezeti hasonlóságokat.

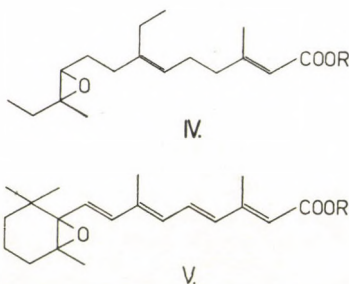
A rovarok bábozódását és az imago kibúvását serkentő hatású hormon: az ecdizon (I), a rákok vedlési hormonja: a 20-hidroxi-ecdizon (II), valamint a D₃-vitamin hormon: az 1,25-dihidroxi-cholecalciferol (III) szerkezeti képlete:



Figyelemre méltó, hogy a rákok vedlésének egyik döntő szabályozó folyamata a kalcium-anyagszere változása. Vedléskor a régi pánccél fokozatos lysist szenved. Ilyenkor nemcsak a belső kitinréteg oldódik fel, hanem a pánccélban levő mészsók is. A pánccél mésztartalma ilyenkor harmadára csökken.

Ebben az időszakban a szérum kalcium-tartalma igen magas. Az exuvium leválása után a redőzött új kutikula kifeszül. Az új páncél fokozatos megszilárdulása úgy történik, hogy az állat a kopoltyú epitheljén keresztül kalcium ionokat vesz fel, ami a páncélba épül be [30]. Különösen érdekes ilyen szempontból az ekdizon és származékainak szoros szerkezeti rokonsága a kalcium homeostasis szabályzó D_3 -vitamin hormonnal.

Az ekdizonnal lényegében antagonista hatású rovarhormon: a juvenil hormon (IV), valamint egy bioaktív A-vitamin metabolit (V) szerkezeti képét az alábbiakban mutatjuk be [60]:



Említést érdemel, hogy a juvenil hormon is — hasonlóan a szteroidhormonokhoz és A-vitaminhoz — a genetikus információn keresztül hat. A-vitaminszerű hatását az alábbi élettani tulajdonságai támasztják alá:

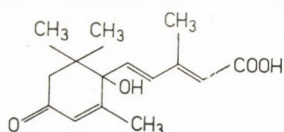
Serkenti a vitellogenesiszt, a pete éréséhez szükséges szik termelődését (lásd az A-vitamin corpus luteum képzést elősegítő hatását). Hatása nem sex-specifikus és gonadotrophormon-szerű (lásd az A-vitamin alapvető fontosságát mind a hím, mind a nőstény állatok termékenységének biztosításában).

Ami a juvenil hormon metamorfózist gátló hatását illeti, utalunk az A-vitamin tiroxin antagonista, és a kételtűek metamorfózist gátló tulajdonságára.

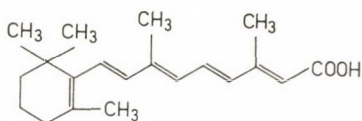
Elmondottak alapján joggal feltételezhetjük, hogy a juvenil hormon nemcsak szerkezeti analógiát mutat az A-vitaminnal és annak bioaktív metabolitjaival, hanem hatásmódjában és spektrumában is ahhoz hasonló tulajdonságokkal rendelkezik. Érdekesnek látszik ilyen szempontból az a megfigyelés, hogy egyebek között placenta-, ovárium- és corpus-luteum-extraktumok is juvenil hormon hatást mutatnak [148].

A hüllők és madarak vedlését a tiroxin hormon szabályozza és annak adagolásával a vedlési folyamatok kiválthatók [62, 3]. A tiroxin tehát széles körű metamorfózist szabályozó hatással rendelkezik és morfogenetikus hatása is közismert. Pajzsmirigy hiányában valamennyi egyéb endokrin szerv intaktsága mellett sem következnek be a nemi érészel kapcsolatos szomatikus változások [1].

A lombos növényeknek a mérsékelt égövön történő őszi lombhullatását a dormin (abszcezinsav) (VI) szabályozza. Ez a magasabb rendű növények inhibitor anyaga, mely gátolja a csírázást, a növekedést és sietteti a lombhullást. Elsősorban a kinetinek, kisebb mértékben az indolecetsav és gibberellinsav antagonistája. Összehasonlításképpen az A-vitamin egyik bioaktív metabolitjának: a retinsavnak (VII) szerkezeti képletét tüntetjük fel:



VI.



VII.

Figyelmet érdemel, hogy nem minden metamorfózis esetében ismerjük a folyamat mindkét szabályozó hormonját. Nézzük meg ezt táblázatosan:

Species	Metamorfózist akceleráló hormon	Metamorfózist gátló hormon
Rovarok Rákok Kétéltűek	Ekdizon 20-hidroxi-ekdizon Tiroxin D ₃ -vitamin hormon? Parathormon? Kinetinek Gibberellinsav	Juvenil hormon Asztaxantin? Litoralón A-vitamin
Lombos fák		Dormin

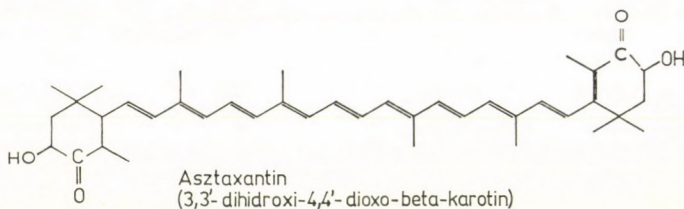
Az A-vitamin adagolás hatására a pajzsmirigy kifejlődése erősen gátolt az ebihalak metamorfózisa során [101], a tiroxin metamorfózist gyorsító hatása A-vitaminnal felfüggeszthető [95]. Emellett az A-vitamin elősegíti a lizoszomális enzimek okozta faroklysis [145] és gátolja a farokregenerációt [100] ebihalak esetében. Érdekes hatása az A-vitaminnak, hogy ugyanakkor elősegíti a kétéltűek metamorfózisa során a bélfal megvastagodását és a bélfalban levő kehelysejtek kialakulását. Vizsgálataink alapján a litoralón az A-vitaminnal teljesen analóg hatást mutat a kétéltűek metamorfózisának befolyásolásában. A metamorfózis során a szöveti involúció és lizoszomális enzimaktivitás összefüggésével Anurák esetében részletesen foglalkozott WEBER [144]. Eszerint kétéltűek úszófarkának visszafejlődése során a katepszin fajlagos aktivitása 22—50-, a beta-glukuronidáz 12—50-, a savanyú dezoxiribonukleáz pedig 50-szeresére emelkedik.

Említést érdemel, hogy a legutóbbi időben GWYNNE és mtsa [52] *Rana catesbeiana* ebihalak farokszövetében a taurin mennyiségének megnövekedését észlelték a lysis megkezdése előtt. A folyamat befejeződésének szakaszában a taurinszint visszaesett a premetamorfotikus szintre. Trijód-tironinnal kezelt ebihalak taurin-szintje nem változott. Szerzők ebből arra következtetnek, hogy a metamorfózist nem kizárólag a pajzsmirigy hormonok irányítják. Megítélésünk szerint a taurin e cikkben leírt, a litoralónnal és A-vitaminnal

analóg viselkedése amellett szól, hogy a taurinnak a litoralon bioszintézis intermediereként, vagy metabolitjaként lehet szerepe a metamorfózis során (lásd később).

Itt említjük meg, hogy retinitis pigmentosában — mely mint láttuk, A-vitamin metabolizmus zavar — a retinában a taurin mennyisége szignifikánsan csökken [20], valamint, hogy taurin adagolás hatására mind emberben, mind állatokon helyreáll mind a központi idegrendszerben, mind a plazmában a normális glutaminsav-szint [46].

Rákok esetében az antagonistá hormont nem ismerjük, nagy valószínűséggel feltételezhetjük azonban elmondottak alapján, hogy ez a hatóanyag az asztaxantin.



Eddigi ismereteink alapján az asztaxantinról tudjuk, hogy az a rákfélék páncéljában megtalálható. Normál állapotban ez sötétzöld kromoproteid formában van jelen és főzéskor ez okozza a rákok vörös színét. Az asztaxantin ilyenkor szabadabbá válik [66]. Az asztaxantin A-vitamin hatású anyag és patkányok A-hypovitaminózisban bekövetkező xerophthalmiája asztaxantin kezelés hatására gyógyul [93].

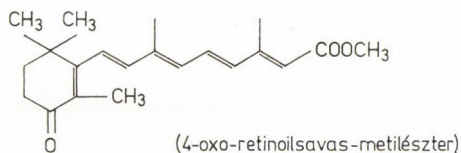
Az asztaxantin béta-karotinból történő keletkezése az alacsonyabb rendű állatoknál igazolt [92]. Jelentős mennyiségű asztaxantin található a hering ikrájában is. Ugyancsak megállapítást nyert, hogy a hering-halikrával etetett, A-hypovitaminosisban szenvedő patkányok esetében az asztaxantin kivédi az A-vitamin hiánytüneteit [96].

Elmondottak alapján feltételezhető, hogy a rákok vedlése a 20-hidroxi-ekdizon és asztaxantin kölcsönös reguláló, antagonistá hatására következik be. Előbbi a rákpáncél felépítésében, utóbbi annak lebontásában, lysisében játszik főszerepet.

Az asztaxantin egyébként támogatni látszik az A-vitamin és származékainak szerepét a bioszférikus adaptációban is. A lazacok szervezete is jelentős mennyiségű asztaxantint tartalmaz. A tengeri lazacok kékeszöld színe az édesvízben vörös színűre változik. Feltételezhető, hogy az édesvízi adaptációhoz egyes halfajták esetében asztaxantin jelenléte szükséges, hasonlóan a már ismertetett A₂-vitamin arány-eltolódáshoz. (Kopoltyú transzepitheliális transzport, Na—K ATP-áz aktivitás változás.)

Az a tény, hogy oxidált isoprenooid struktúrák is A-vitamin hatást fejtenek ki, valamint, hogy ez a biooxidáció az állati szervezetben is létrejön, további alátámasztását adja YAGISHITA és mtsai [153] azon megfigyelésének, hogy az A-vitamin patkányban hidroxil-, keto- és karboxil-csoportokat tartalmazó, vízoldható bioaktív metabolittá alakul. Hidroxil tartalmú karotin egyébként a magasabb rendű élőlényekben is előfordul. Madarak tojása, de az emberi macula lutea [22] és corpus luteum is tartalmaz xantofillt (lutein, 3,3'-dihidroxi-alfa-karotin). A lutein A-vitaminszerű hatása mellett szól, hogy

adaptinol néven gyógyszerkészítményként is sikeresen alkalmazzák a sötét adaptáció javításához [61]. Igazolást nyert egyébként az is, hogy a lutein, illetve az ebből származó anhydrolutein édesvízi halban dehydro-retinollá, azaz A₂-vitaminná képes átalakulni [9], valamint, hogy az A-vitamin emberben is képes 4-oxo-származékká alakulni és a vizelettel kiürülni [118].



A metamorfózis biológiai evolúciójának tanulmányozása alapján megállapítható, hogy a természet nyelvén — fogalmainknál tágabban — értelmezett metamorfózis teljes egészét isoprenoid, az A-vitaminhoz közel eső természetes eredetű anyagok, hormonok befolyásolják. Ez a hatás negatív előjelű, retardáló hatású és egyben a metamorfózis lizoszomális eredetű lytikus rezorpció feladatát teljesíti. Ilyen hatású a litoralon is, az A-vitamin metabolizmus irányításában kifejtett A-vitaminszerű hatásjellege folytán.

A metamorfózist akceleráló hormonok részben az isoprenoid struktúrában belül az 1,25-dihidroxi-cholecalciferolhoz, tehát ahhoz a D₃-vitamin hormonhoz hasonlítanak, melynek hatását a mellékpajzsmirigy másik hormonja: a parathormon modulálja. Ez a hatás valószínűleg összefüggésben van az ásványi anyagcserére — elsősorban a kalcium- és foszfát-anyagcserére — kifejtett, valamint anabolikus hatásával. Az abietinsav-antagonista gibberellinsav távolabb esik a D₃-vitamin hormon struktúrájától, de ez is isoprenoid kondenzált gyűrűs vegyület. A tiroxin, mint metamorfózist akceleráló hormon, semmiféle analógiát nem mutat az isoprenoid struktúrákkal, figyelemre méltó azonban A-vitamin antagonistá hatása. A kortizon metamorfózist akceleráló hatása A-vitamin, illetve litoralon antagonistá hatásából következik (lizoszomális stabilizátor). Az isoprenoid A-vitamin struktúranalógiával rendelkező metamorfózist gátló hormonok további alátámasztását adják emlősökben is e D₃-vitamin hormonnal analóg A-vitamin hormon, illetve hormonok jelenlétének. (Magasabb oxidációs fokú, polárosabb karakterű keto- és hidroxicsoportokat is tartalmazó retinoilsav?) A legutóbbi években végzett vizsgálatok, melyek különböző retinoid binding proteinek kimutatására és izolálására irányultak, másrészt az a tény, hogy különböző retinoid struktúrák képesek a cellularis receptorokkal interakcióba lépni [126], ugyancsak egyre inkább azt a feltételezést támasztják alá, hogy az isoprenoid struktúrák közül nemcsak a szteránvázas vegyületek, hanem a karotinoid és retinoid vegyületek is rendelkeznek széles körű hormonális, illetve bioaktív tulajdonságokkal.

A metamorfózis során bemutatott struktúranalógiák a biokémiai evolúció konzervatív voltának újabb bizonyítékául szolgálhatnak, ami az evolúció mechanizmusából is következik. A mutációs frekvencia szelekció szempontjából történő effektivitása ugyanis a valószínűségi számítás szerint az ismert struktúrák változása révén lényegesen nagyobb, mint teljesen új biokémiai rendszerek létrehozásával. Talán — fentiekből következtethetően — ennél figyelemre méltóbb az a feltételezés, hogy egymástól az evolúció során ősidőkben elvált törzsek: a rovarok, rákok, szárazföldi gerincesek és magasabb

rendű növények genetikus adaptációjuk során hasonló feladatokat hasonló biokémiai módon oldanak meg, ami az élő világ szoros és mélyen gyökerező összefüggéseire utal.

Érdekes itt még megjegyezni, hogy az édesvízi halak látóbíbor A_2 -vitamin-t tartalmazó porphyropsin, vagy A_1 -vitamin-t tartalmazó rhodopsin és porphyropsin keverékből áll, melyben általában az utóbbi van túlsúlyban [138, 32, 18, 122]. BARUA és mtsa [9] édesvízi halban az anhydrolutein A_2 -vitaminná történő átalakítását bizonyították. Az ebihalak retinája ugyancsak rhodopsin és porphyropsin keverék, általában az utóbbi irányában történő arány-eltolódással [140, 29, 98].

Metamorfózis után egyes Rana-félék látóbíbor majdnem teljesen rhodopsinná alakul [98, 78].

Az Urodelek metamorfózisa során nemcsak A-vitamin metabolizmusuk változik, hanem ezalatt alakul ki mellékpajzsmirigyük is, míg a kopoltyújukat megtartó kétéltűek esetében (perennibranchiata) nem fejlődik ki mellékpajzsmirigy [83, 50, 68] és porphyropsinjük sem változik életük során [29, 139, 21].

Ezek az összefüggések arra utalnak, hogy a bioszférikus genetikus adaptáció akár a tengervízből az édesvizek meghódítása felé, akár a tengervízből a szárazföld felé irányul, mindenképpen retinoid transzformációval jár. Ez a retinoid transzformáció a szárazföldre lépés során hormonális reguláció alá kerül, mégpedig a mellékpajzsmirigy kialakulásával.

V. A litoralon, mint egyidejű adaptációs hormon és neurotranszmitter? (A szerkezeti képletből kiinduló elképzelések.)

A litoralon szerkezeti képletének figyelembe vétele, valamint az a tény, hogy a hatóanyag az izomhypotoniákat (a perifériás eredetűeket is) kedvezően befolyásolja és psychoenergetizáló, nootrop, a mnesztikus funkciókat javító hatással is rendelkezik, felveti a litoralon szerepét a neurotranszmisszióban. Vegyük szemügyre ilyen szempontból a neurotranszmittereket jellemző legfontosabb tulajdonságokat:

1. Valamennyi neurotranszmitter alacsony molekulásúlyú (300 alatti) vízoldható anyag. Ez szükséges feltétel ahhoz, hogy gyorsan penetrálni tudjon a praesinaptikus membránon, véglemezkén, vagy a cerebrális rendszer membránjain és a receptorokhoz diffúzió útján eljusson.

2. A neurotranszmitterek bioszintézise néhány lépésből állhat csak. Ez szükséges feltétel ahhoz, hogy megfelelő ingerület hatására ne csak a tároló szemcsékből szabaduljon fel gyorsan, hanem a hatóanyag utánpótlása is igen gyorsan megtörténhessen.

3. A 2. pontból következően a neurotranszmitterek bioszintézise a szervezetben, illetve vérkeringésben mindenütt jelenlevő, preformált anyagokból kell hogy kiinduljon. Nem tekinthető véletlennek, hogy a neurotranszmitterek valamennyien aminosavszerű vegyületek. Itt meg kell jegyezni, hogy a taurint az utóbbi időben egyértelműen aminosavnak tekintik és véleményünk szerint az aminosavpoolban előforduló kolaminfoszfát, mely a taurin szerkezeti csoportba tartozik, ugyancsak aminosavnak tekinthető. E felfogás szerint tehát az acetilkolin is aminosavszerű anyag.

A litoralon kémiai szempontból speciális kötésű mikropeptidnek (gamma dipeptid) tekinthető. Mindkét építőköve olyan aminosav, mely egyben neuro-

transzmitter is [65]. Megjegyzendő, hogy a GABA — mely mint ismeretes, ugyancsak neurotranszmitter — taurin származéka, vizsgálataink szerint a litoralonnal azonos hatású anyag.

Arra a kérdésre, hogy a litoralon néhány biokémiai lépésen keresztül képződhet-e a szervezetben, egyértelműen igennel felelhetünk. Elvileg több szintézisút is adódhat, legvalószínűbb azonban, hogy a litoralon a membránokban jelenlevő gamma-glutamyl ciklus útján közvetlenül termelődik, vagy a gamma-glutamyl-cysteinből [87] képződik, oxidatív dekarboxilezés útján. Figyelmet érdemel, hogy fenti intermediert előállító enzim: a gamma-glutamyl-cystein-synthetáz is része a gamma-glutamyl ciklusnak, mely az aminosav transzportot bonyolítja a vesetubulusokon, choroid plexuson és valószínűleg egyéb membránokon keresztül. Eszerint újabb értelmezést kap a litoralon transzepitheliális transzportban kifejtett szerepe is, másrészt talán neurotransmissziós hatása is. Amennyiben ugyanis a gamma-glutamyl-cystein-synthetáz enzimet az antimetabolit methionin-S-sulfoximinnel bénítják, az állatokon súlyos görcsök jönnek létre. Ehhez kapcsolódik azon észlelés, hogy ha nyulakban sikerült litoralon-ellenes immunsavót képezni, azokban súlyos görcsrohamok és bénulások jelentkeztek, és részben elpusztultak.

KONRAD és mtsai [69] olyan betegeket ismertettek, akik gamma-glutamyl-cystein-synthetáz enzim defektusban szenvednek. A betegség tünetei: súlyos haemolytikus anaemia (vörösvérsejt membrán permeabilitás zavar) és központi idegrendszeri zavarok (mentális retardáció, psychosis, spino-cerebellaris degeneráció), valamint transzepitheliális transzport zavarok (generalizált amino-aciduria, elsősorban a neutrális és dibázikus aminosavakat illetően).

Azt az elképzelést, hogy a litoralon bioszintézise a gamma-glutamyl-cysteinin keresztül oxidatív dekarboxilezéssel történik, alátámasztja még az a megfigyelés is, hogy a litoralontermelésért felelőssé tehető mellékpajzsmirigy acidofil sejtek nagy mennyiségű oxidatív enzimet termelnek [135].

Nem lehet kizárni természetesen annak lehetőségét sem, hogy a szervezetben úgyszólván mindenütt jelenlevő és cysteinből képződő taurin, az ugyancsak mindenütt jelenlevő glutaminsavval esetleg közvetlenül is kapcsolódhat litoralonná. Ezt a feltevést erősíti, hogy GGTP (gamma-glutamyl-transzpeptidáz) jelenlétében sikerült gamma-glutamyl-peptideket taurinnal transzpeptidálni, ehhez azonban jóval nagyobb koncentrációk voltak szükségesek, mint ami természetes körülmények között előfordulhat. Tekintve, hogy a litoralont a GGTP már kis koncentrációban bontani tudja, valószínű, hogy ez az enzim a litoralon hatásának megemmisítésében játszik inkább szerepet. Másik oldalról ez utóbbi szintézisút mellett szól — mint láttuk — az a megfigyelés, hogy taurin adagolás hatására normalizálódik a központi idegrendszerben és a plazmában a glutaminsavszint, valamint, hogy hormonális hatásra változik a szervezet taurinigénye [5, 54].

Női nemi hormonok hatására csökken a vizelettel történő taurinkiválasztás, glukokortikoidok hatására pedig növekszik [63].

A taurin orális adagolása csökkenti az adrenalin kibocsátást a mellékvese-velőből [73].

Stressz hatására kétszeresére növekszik a taurin vizelettel történő kiválasztása és ugyancsak növekszik a 17-ketoszteroid vizelettel történő kiválasztása is [63].

A vázolt elképzelés — mely szerint a litoralon neurotranszmitter anyag is és hormon is — annál valószínűbb, mert hasonló megoldást az evolúció más

esetekben is alkalmazott. A legismertebb ilyen megoldás a noradrenalin és adrenalin példáján mutatható be. Mindkét anyag neurotranszmitter, melyeknek termelése a szimpatikus ganglionokban éppen úgy folyik, mint a mellékvesevelőben, a tirozin aminosavból kiindulva, oxidatív és dekarboxilező enzimek segítségével [117].

Másik, és a legutóbbi kutatásokra épülő példa a tobozmirigy hormonjának, a melatoninnak példája. KOSLOW [71] vizsgálati eredményei szerint patkány hypothalamusban mind a melatonin, mind annak bioszintézisében résztvevő neurotranszmitter hatású közbenső indolszármazékok: a szerotonin, N-acetilszerotonin és 5-metoxitriptamin kimutathatók. Ezek koncentrációja pinealektomizálás után egy hónappal sem csökken. A tobozmirigy az alsórendű vízi gerincesekben is megtalálható és fejlődéstanilag a mesencephalonból származik.

A litoralon extraglandularis bioszintézisének lehetősége mellett szól az a kísérleti megfigyelés is, hogy parathyroidectomia — abban az esetben, ha kalcium-bevitellel a szérumkalcium-szintet fiziológiás értéken tartjuk — a kísérleti állatokon (patkány, kutya), legalábbis rövidebb megfigyelési idő alatt, nem mutat markáns hiánytüneteket, hasonlóan a mellékvesevelő, vagy tobozmirigy kiirtásához.

A mellékpajzsmirigy és központi idegrendszer közötti kapcsolatot érdekes szempontból világítja meg SCHAAF és mtsa [121] megfigyelése. Eszerint hypoparathyroidismusban szenvedő betegek fokozottan érzékenyek a fentiazin trunkvillánsokra és azok már terápiás dózisban is súlyos extrapyramidalis mérgezési tüneteket okoznak az ilyen betegeknél (izomgörcsök, torticollis, trismus, opisthotonus, gégegörcs és respiratory distress syndroma, a csökkent mucinszekréció miatt). Ez a hatás normokalcaemiás esetekben is létrejön és a tünetek kalciumglukonát és magnéziumsulfát infúzióval sem függeszthetők fel, tehát függetlenek a szérum-kalcium homeostasis zavarától. Szerző a tünetek magyarázatánál megemlíti, hogy parkinsonismus esetében a corpus striatum dopamin koncentrációja jelentősen csökken, tehát a hypoparathyroidismus esetében is hasonló jelenségről lehet szó, amit a fentiazinok adása tovább fokoz. A fentiazin származékokról egyébként ismert, hogy mind a központi idegrendszerben, mind a vegetatív idegrendszer végkiszülékein dopamin-, illetve noradrenalin-specifikus receptorokon kötődnek, és így gátolni tudják ennek az élettani ingeranyagnak a kötődését.

Fentiek alapján feltételezhető, hogy adott esetben a hypoparathyroidismusnak a parathormon-hiánytól független és a litoralon-hiánnyal összefüggő tüneteiről van szó. A litoralonnak, mint neurotranszmitter anyagának a hiánya okozhatja az extrapyramydium inhibitoros (illetve szűrő funkciót betöltő) szinapszisainak olyan irányú zavarát, mely érzékenyebbé teszi azokat a dopamin-hiányra. Figyelembe kell itt még venni, hogy az agyszövetekben a katekolaminok hatáskifejtése a Na—K ATP-áz aktivitásának fokozásához kötött, hasonlóan az 5-hidroxitriptamin hatásához, mely hyperpolarizációs állapotban oubainnal felfüggeszthető [109]. A tünetek létrejöttében tehát a litoralon transzepitheliális transzportra kifejtett hatásának kiesése is szerepet játszhat.

Annak feltételezése tehát, hogy a litoralon és fentiazin származékok élettani hatása legalábbis bizonyos területeken antagonisztikus, megalapozottnak látszik. Ezt a feltételezést tovább erősítik a fentiazinok mellékhatásai, melyek az alábbiak:

látásélesség csökkenés,
hemeralopia,
retinitis pigmentosa,
szájszárazság,
nasalis congestio,
respiratory distress syndroma,
izomtónus csökkenés, gyengeség,
galactorrhoea,
anxiolitikus synergista hatás,
hypokalaemia,
fotosensitivitás [108].

A felsorolt tünetek részben A-vitamin metabolizmus zavarra (látás-zavarok, exokrin mirigy hypofunkciók, transzepitheliális transzport zavarok), részben pedig az ezzel ekvivalens litoralon antagonistára utalnak. A litoralon kedvezően befolyásolja az izomhypotoniát, galactorrhoeát, psychoenergetizáló és radioprotektív hatással rendelkezik, és adása szorongásos tünetekben ellenjavallt.

Elmondottakból azt a következtetést vonhatjuk le, hogy mind a noradrenalin és adrenalin, mind a melatonin, mind pedig a litoralon az evolúció során először kizárólag neurotranszmitter anyagok voltak, majd termelésüket endokrin mirigyek is átvették. Ezt a fillogenezis során fokozatosan fejlődő élő rendszerek adaptációs igényei tették szükségessé. Így a vészreakciók az élőlények védekező, illetve menekülő készségét fokozták (adrenalin, noradrenalin), az utódokról történő megfelelő gondoskodás, a párzás időszakát kellett hogy a nappalok, azaz a megvilágítás hosszához kösse (melatonin). A Devon korszakban kialakuló gerinces szárazföldi élet ugyancsak új adaptációs igényeket támasztott: a szárazföldi életfeltételekhez való alkalmazkodás igen széles körű követelményeit (litoralon). Ez a fejlődés egyben a neurotranszmitterek jelentős hatásbővüléséhez vezetett és új receptorok kialakulását követelte meg.

A litoralon neurotranszmissziós hatását támasztják alá azok a vizsgálatok is, melyek szarvasmarha és hal izomszövetéből — bár a mellékpajzsmirigy szövetéhez képest két nagyságrenddel kisebb koncentrációban — litoralon jelenlétét mutatták ki.

VI. Összefoglalás

A mellékpajzsmirigy a fillogenezis során a szárazföldi gerincesek kialakulásával egyidőben jelent meg és az Anuráknál a metamorfózis időszakában alakul ki. Feltételezem, hogy a mellékpajzsmirigy megjelenésének és a szárazföldi gerincesek evolúció során történt kialakulásának szoros egybeesése nem véletlenszerű, hanem szükségszerű. A mellékpajzsmirigynek kitüntetett szerepe van a gerincesek szárazföldi életfeltételeinek biztosításában, az aerobioszférikus genetikai adaptációs rendszer (AGAR) funkcióinak szabályozásában. E funkciók szabályozásából az ismert mellékpajzsmirigy-hormon: a parathormon csak egy részt teljesít, D-vitaminszerű hatáskifejtéssel. A többi funkció a mellékpajzsmirigy egy másik bioaktív anyaga: a litoralon teljesíti, elsősorban A-vitaminszerű, az A-vitamin metabolizmust befolyásoló hatáskifejtéssel.

Az 1970-ben elkezdett és azóta negyven hazai kutatóhely intenzív bevonásával folyó vizsgálatok e munkahipotézist számos ponton igazolták, nemcsak parathormon-mentes mellékpajzsmirigy extraktumokkal, hanem az azóta izolált és szintetikus előállított hatóanyaggal, a gamma-L-glutamyl-taurinnal (litoralon) végzett kísérletek során is.

A litoralon, mint az A-vitaminnal analóg hatású, általános celluláris és szubcelluláris biomembrán permeabilitást befolyásoló anyag, fontos szerepet tölt be, elsősorban a lizoszomális membránpermeabilitást fokozó hatásán keresztül, az immunhomeostasis szabályozásában, és immunanergiás állapotok restituálásában. A transepitheliális transzportban kiemelkedik nyomelemháztartást befolyásoló hatása. Jellemző mesenchyma aktiváló, kortizon-antagonista hatása, melyet az A-vitaminhoz hasonlóan transzkripció szinten fejt ki.

Feltételezzük, hogy a mellékpajzsmirigy által modulált két isoprenoid struktúrának: az A-vitaminnak, valamint D₃-vitaminnak és metabolitjainak, illetve analógjainak fontos és általános szerepük van az egész földi élet metamorfotikus jelenségeinek irányításában. A litoralon, A-vitamin és analógjai lényegében retardáló, a parathormon, D₃-vitamin és analógjai pedig lényegében akceleráló hatást fejtenek ki a rovarok, rákok, kétlélűek és egyes növények metamorfotikus folyamataira, azzal a megszorítással, hogy a mellékpajzsmirigy hatása csak a kétlélűek metamorfózisának befolyásolása során érvényesül, az A-, illetve D₃-vitamin hatásának modulálásán keresztül. A retinoidok hiányának, illetve nagy feleslegének teratogén hatásai is azok nélkülözhetetlen szerepére utalnak a szárazföldi gerincesek ontogenesisében.

Az édesvízi bioszférikus adaptációban is szerepe van a retinoid struktúra változásának. (Az A₂ : A₁ vitamin arány eltolódása.) Nagy valószínűséggel feltételezhető tehát, hogy az isoprenoid és azon belül a retinoid struktúrák a földi élet genetikus bioszférikus adaptációjában általános és kitüntetett szerepet játszanak, az érzékszervekben betöltött, és különösen a látásban jól ismert cisz-transz átizomerizálódáson alapuló sensoneuralis funkciójukon túlmenően.

Az ismertett elképzelés szerint a litoralon a gerinces szárazföldi élet kialakulása előtt mint neurotransmitter anyag már létezett, és a szárazföldi életfeltételekhez való adaptáció során vált hormonná is. Szerepe ilyen szempontból a katekolaminokkal és melatoninnal analóg.

Az ismertett munkahipotézis, mely közvetlenül a litoralon hatóanyag és annak farmakológiai, biokémiai és klinikai hatásfelismeréséhez vezetett, a fokozatosan kibontakozó kísérleti tények alapján tovább fejlesztve azt lát-szik alátámasztani, hogy a filogenetikai és ontogenetikai alapra épített elméletek nemcsak új élettani és biokémiai összefüggések felismerését segíthetik, hanem ösztönzői lehetnek gyakorlati terápiás kérdések megoldásának is.

IRODALOM

1. ÁDÁM, G., FEHÉR, O. (1975) *Összehasonlító Élettan*. Tankönyvkiadó, Budapest, p. 405.
2. AGUS, Z. S., PUSHETT, J. B., SENESKY, D., GOLDBERG, M. (1971) Mode of action of parathyroid hormone and cyclic adenosine 3'5'-monophosphate on renal tubular phosphate reabsorption in dog. *J. Clin. Invest.*, **50**, 617–626.
3. AMMON, R., DIRSCHERL, W. (1948) *Fermente, Hormone, Vitamine*. Ed. Thieme, G., Leipzig, p. 343.
4. ANDERSEN, O. (1932) Lysosomes in xerophthalmia. *Hospitalstid* **75**, 1029–1037.
5. ARMSTRONG, M. D. (1973) Decreased taurine excretion in relation to childbirth, lactation and progestin-estrogen therapy. *Clin. Chim. Acta*, **46**, 253–256.

6. ARVY, L. (1968) Le rein et les vitamines A. *Laval Medical*, **39**, 142—172.
7. AZAR, M. M., GOOD, R. A. (1971) The inhibitory effect of vitamin A on complement levels and tolerance production. *J. Immunology*, **100**, 241—245.
8. BARGMANN, W. (1939) *Anatomie der Menschen*. Springer Verl. Berlin. Vol. VI/2. 137.
9. BARUA, A. B., DAS, R. C. (1975) Occurrence and conversion of anhydrolutein into dehydroretinol in a freshwater fish. *Brit. J. Nutr.* **33**(3), 319—327.
10. BEIGLBÖCK, W., HOFF, H. (1952) Über des Sjögrensche Syndrom. *Dtsch. Med. Wschr.*, **77**, 42—45.
11. BIELIG, H. J. (1957) Vitamine A. In: FLASCHENTRÄGER, B., LEHNARTZ, E. (ed.): *Physiologische Chemie*. Der Stoffwechsel. II. b. Berlin—Göttingen—Heidelberg, 654—709.
12. BILLITERI, A., RAOUL, Y. (1965) Action de la vitamine A sur le complément *in vitro* et *in vivo*. *Compt. Rend. Soc. Biol.*, **159**, 1882—1886.
13. BOLLAG, W. (1970) Vitamin A and vitamin A acid in the prophylaxis and therapy of epithelial tumours. *Int. J. Vit. Res.* **40**, 299—314.
14. BOROWSKI, F., CYBULSKA, B. (1967) Potassiumless death of *saccharomyces cerevisiae* cells treated with N-succinyl perimycin and the reversal of antifungal action of the antibiotic by potassium ions. *Nature*, **213**, 1034—1035.
15. BOURNE, H. R., LICHTENSTEIN, L. M., MEHUMON, K. L., HENNEY, C. G., WEINSTEIN, V., SHEARER, G. M. (1974) Modulation and inflammation by cyclic AMP. Receptors for vasoactive hormones and mediators of inflammation regulate many leucocyte functions. *Science*, **184**, 19—28.
16. BOYLE, I. T., OMDAHL, J. L., GRAY, R. W., DE LUCA, H. F. (1973) The biological activity and metabolism of 24,25-dihydroxy-vitamin D₃. *J. biol. Chem.*, **248**, 4174—4180.
17. BÖHME, A. (1971) Klinische und hämatologische Erscheinungen beim Sjögren-Syndrom. *Zschr. ärztl. Fortbild.*, **65**, 244—248.
18. BRIDGES, C. D. B. (1965) Absorption properties, interconversions and environmental adaptation of pigments from fish photoreceptors. *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.*, **30**, 317—334.
19. BRODEHL, J., GILLISSEN, K., KOWALEWSKI, S. (1967) Isolierter Defekt der tubuläre Cystin-Rückresorption in einer Familie mit idiopathischem Hypoparathyroidismus. *Klin. Wschr.*, **45**, 38—40.
20. BROTHERTON, J. (1962) Metabolism of the rat retina with special reference to retinitis pigmentosa II. Amino acid content as shown by chromatography. *Exp. Eye Res.*, **1**, 246—252.
21. BROWN, P. K., GIBBONS, I. R., WALD, G. (1963) The visual cells and visual pigment of the mudpuppy, *necturus*. *J. Cell. Biol.*, **19**, 79—106.
22. BROWN, P. K., WALD, G. (1963) Visual pigments in human and monkey retinas. *Nature*, **200**, 37—43.
23. CAPEN, C. C., KOESTNER, A., COLE, C. R. (1965) The ultrastructure and histochemistry of normal parathyroid gland of pregnant and nonpregnant cows. *Lab. Invest.*, **14**, 1673—1690.
24. Ciba Found. Symp. 11. (1973) Hard Tissue Growth Repair and Remineralization. Elsevier Excerpta Medica. 437.
25. COHEN, B. E., COHEN, I. K. (1973) Vitamin A adjuvant and steroid antagonist in the immune response. *J. Immunol.*, **111**, 1376—1380.
26. COHEN, B. E., ELIN, R. J. (1974) Enhanced resistance to certain infections in vitamin A treated mice. *Plastic and Reconstr. Surg.*, **54**, 192—194.
27. CORBEL, M. J. (1975) The immune response in fish: a review. *J. Fish. Biol.*, **7**, 539—563.
28. CRABBÉ, J. (1967) Suppression by amphotericin-B of the effect exerted by aldosterone an active sodium transport. *Arch. int. Physiol.*, **75**, 342—345.
29. CRESCITELLI, F. (1958) A natural history of visual pigments. *Ann. NY. Acad. Sci.*, **74**, 230—255.
30. CROME, W. (1971) *Uránia Állatvilág*. Alsóbbrendű állatok. Gondolat Kiadó, Budapest, p. 510.
31. CSABA, G. (1973) A sejtműködés szabályozása. *Orv. Hetilap*, **114**, 245—254.
32. DARTNALL, H. J. A., LYTHERGUE, J. N. (1965) The spectral clustering of visual pigments. *Vision Res.*, **5**, 81—100.
33. DE LUCA, H. F. (1972) Parathyroid hormone as a trophic hormone for 1,25-dihydroxy-vitamin D₃, the metabolically active form of vitamin D. *New Engl. J. of Med.*, **287**, 250—251.
34. DE LUCA, H. F., LITTLE, E. P., WOLF, G. (1969) Vitamin A and protein synthesis by rat intestinal mucosa. *J. biol. Chem.*, **244**, 701—708.

35. DIENGDOK, J. V., TURK, J. L. (1965) Immunological significance of lysosomes within lymphocytes in vivo. *Nature*, **207**, 1405—1406.
36. DIMITROVSKIJ, A. A., SOLOVJEVA, N. V., ERMILOVA, L. K. (1974) A new natural metabolite of vitamin A. *Prikl. Biokhim. Mikrobiol.*, **10**, 350—357.
37. DOWLING, J. E., WALD, G. (1960) The biological activity of vitamin A acid. *Proc. Natn. Acad. Sci. USA*, **46**, 587—608.
38. DRESSER, D. W. (1968) Adjuvanticity of vitamin A. *Nature*, **217**, 527—529.
39. DUBOULOZ, P., MARVILLE, R., CHEVALIER, C. (1947) Determination of vitamin A factor in foods. *C. R. Soc. Biol. Paris*, **141**, 1244—1245.
40. FEUER, L. (1971) CI-1146 sz. magyar szabadalom.
41. FONTAINE, M. (1956) The hormonal control of water and saltelectrolyte metabolism in fish. *Mem. Soc. Endocrinol.* **5**, 69—82.
42. GAILLARD, P. J. (1965) Observations on the effect of parathyroid products on explanted mouse limb-bone rudiments. In: GAILLARD, P. J., TALMAGE, R. V., BUDY, A. M. (ed.): *The Parathyroid Glands*. University of Chicago Press, p. 145.
43. GALE, E. F. (1974) The release of potassium ions from candida albicans in the presence of polyene antibiotics. *J. gen. Microbiol.*, **80**, 451—465.
44. GARABEDIAN, M., PAULOVITCH, H., FELLOU, C., BALSAN, A. S. (1974) Metabolism of 25-hydroxyvitamin D₃ in anephric rats: a new active metabolite. *Proc. Natn. Acad. Sci. USA*, **71**, 554—557.
45. GARDNER, L. I. (1969) *Endocrine and Genetic Diseases of Childhood*. Ed. SAUNDERS, V. B. Co. Phyl.—London—Toronto. p. 375.
46. von GELDER, N. M. (1976) Rectification of abnormal glutamic acid levels by taurine. In: HUXTABLE, R., BARBEAU, A. (ed.): *Taurine*. Raven Press, New York, 301.
47. GLÁZ, E., GYIMESI, J. (1966) *Az újabb chemotherápiás gyógyszerek*. Medicina, Budapest, 206.
48. GOLDBABER, P. (1965) Bone-resorption factors, cofactors, and giant vacuole osteoclasts in tissue culture. In: GAILLARD, P. J., TALMAGE, R. V., BUDY, A. M. (ed.): *The Parathyroid Glands*. University of Chicago Press, 153.
49. GORDON, N., HUDSON, R. E. B. (1959) Refsum's syndrome heredopathia atactica polyneuritiformis. *Brain*, **82**, 41—55.
50. GREEP, R. O. (1963) Parathyroid glands. In: von EULER, U. S., HELLER, H. (ed.): *Comparative Endocrinology*. Academic Press, New York—London, Vol. I., 325.
51. GROB, E. C. (1974) Die Vitamine. A. In: AMMON, R., DIRSCHERL, W. (ed.): *Fermente, Hormone, Vitamine*. G. Thieme Verlag, Stuttgart, Band III/1. 162—221.
52. GWYNNE, H., CASTRO, C. E. (1976) Taurine levels in the anuran tadpole tail during spontaneous and triiodothyronine induced metamorphosis. *Comp. Biochem. Physiol. A*. **54**(24), 245—247.
53. HALVER, B. (1973) Is there more than one parathyroid hormone? *New Engl. J. Med.*, **288**, 321—321.
54. HELLSTROM, K., SCHUBERT, J. (1970) The effect of thyroid hormones on the urinary excretion of taurine in man. *Acta Med. Scand.*, **187**, 61—65.
55. HENKIN, R. I. (1968) Impairment of olfaction and of the tastes sour and bitter in pseudohypoparathyroidism. *Endocr.*, **28**, 624—628.
56. HIATT, H. H., THOMPSON, D. D. (1957) The effect of parathyroid extract on renal function in man. *J. Clin. Invest.*, **36**, 557—565.
57. HORÁNYI, B. (1962) *Neurológia*. Medicina, Budapest, 218.
58. HSU CHEN, C. C., FEINGOLD, D. S. (1973) Selective membrane toxicity of the polyene antibiotics studied on natural membranes. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, **4**, 316—319.
59. HUGHES, G. H., WHALEY, K. (1972) Sjögrens' syndrome. *Brit. Med. J.*, **4**, 533—536.
60. ISLER, O. (1970) Developments in the field of vitamins. *Exp.* **26**(3), 226—240.
61. ISSEKUTZ, B., ISSEKUTZ, L. (1975) *Gyógyszerrendelés*. Medicina, Budapest. 483.
62. Idem, ibidem, p. 511.
63. IWATA, H., BABA, A., YONEDA, Y. (1976) Some factors affecting the concentration of tissue or urinary taurine. In: HUXTABLE, R., BARBEAU, A. (ed.): *Taurine*. Raven Press, New York. 85.
64. JOHNSON, B. C., KENNEDY, M., CHIBA, N. (1969) Vitamin A and nuclear RNA synthesis (in rats). *Am. J. Clin. Nutr.* **22**(8), 1048—1058.
65. KACZMAREK, L. K. (1976) A comparison of the evidence for taurine and GABA as neurotransmitters. In: HUXTABLE, R., BARBEAU, A. (ed.): *Taurine*. Raven Press, New York, 283—292.
66. KARLSON, P. (1972) *Biokémia*. Medicina, Budapest, 392.

67. von KLEIN, S., DÖKERT, B., MARRÉ, E., RENGER, F., WESTERMANN, K. (1974) Untersuchungen zur therapeutischen Beeinflussbarkeit der Hell-Dunkel-Adaptations- und Farbsinnstörungen bei chronischen Lebererkrankungen durch Vitamin A. *Zschr. inn. Med.*, **29**, 484—487.
68. KLOSE, W. (1932) Beiträge zur Morphologie und Histologie der Schilddrüse, der Thymusdrüse und des postbranchialen Körpers von *Proteus anguineus*. *Z. Zellforsch. und mikrosk. Anat.*, **14**, 385—449.
69. KONRAD, P. N., RICHARDS, F., VALLENTINE, W. N., PAGLIA, D. E. (1972) Gamma-glutamyl-cysteine synthetase deficiency. A cause of hereditary hemolytic anemia. *New Engl. J. Med.*, **286**, 557—561.
70. KORDYLAS, J. M. (1972) Vitamin A and fat combination in cholesterol biosynthesis and atherosclerosis. *Lancet* **2**, 606—606.
71. KOSLOW, S. H. (1974) 5-methoxytryptamine: a possible central nervous system transmitter. In: COSTA, E., GESSA, G. L., SANDLER, M. (ed.): *Serotonin-new vistas* Raven Press, New York. Vol. II. 95—100.
72. KULCZICKI, L. L. (1971) Malabsorption with vitamin A deficiency in a college girl treated for cystic fibrosis. *Acta Paed. Scand.*, **60**, 371—372.
73. KURIYAMA, K., NAKAGAWA, K. (1976) Role of taurine in adrenal gland: a preventive effect on stress-induced release of catecholamines from chromaffin granules. In: HUXTABLE, R., BARBEAU, A. (ed.): *Taurine*. Raven Press, New York, 335.
74. LAMPEN, J. O. (1966) Interference by polyene antifungal antibiotics (especially nystatin and filipin) with special membrane functions. *Symposia of the Society for General Microbiology*, **16**, 111—130.
75. LAMPEN, J. O., ARNOW, P. M., BOROWSKA, Z., LASKIN, A. I. (1962) Location and role of sterol at nystatinbinding sites. *J. Bact.*, **84**, 1552—1560.
76. LE GALLIC (1947) Existence, in blood taken from the vessels of a young rat deprived of vitamin A, of a substance with strong vitamin A activity which neither axerophthol nor a carotenoid. *C. R. Soc. Biol. Paris*, **141**, 1214—1218.
77. LICHTENSTEIN, N. S., LEAF, A. (1965) Effect of amphotericin-B on the permeability of toad bladder. *J. Clin. Invest.* **44**, 1328—1342.
78. LIEBMAN, P. A., ENTINE, G. (1968) Visual pigments of frog and tadpole (*Rana pipiens*). *Vision Res.*, **8**, 761—775.
79. LJULJEVA, V. A. (1969) Formation of new vitamin A metabolite in the rat. *Bjuletin Eksper. Biol. i Med. Moskva*. **67**(1), 38—40.
80. MADDoux, G. W., FOLTZ, F. M., NELSON, S. R. (1974) Effect of vitamin A. Intoxication on intracranial pressure and brain water in rats. *J. Nutr.*, **104**, 478—482.
81. MAETZ, J. (1969) Seawater teleosts: evidence for a sodium-potassium exchange in the branchial sodium-excreting pump. *Science*, **166**, 613—615.
82. MARAINI, G. (1974) The vitamin A transporting protein complex in human hereditary pigmentous retinal dystrophy. *Invest. Ophthalm.*, **13**, 288—290.
83. MAURER, F. (1888) Schilddrüse, Thymus und Kiemenreste der Amphibien. *Morphol. Jahrb.*, **13**, 296—382.
84. MCCREDIE, D. A., POWELL, H. R., ROTENBERG, E. (1975) Effect of parathyroid extract on renin release in the dog. *Clin. Sci. and Mol. Med.*, **48**, 461—463.
85. MCLAREN, D. (1970) *Biochemistry of the Eye*. Ed. GRAYMORE, Acad. Press. London—New York, 524.
86. MCMAHON, F. G., COOKSON, D. V., KABLER, J. D., INHORN, S. L. (1959) Idiopathic hypoparathyroidism and idiopathic adrenal cortical insufficiency occurring with cystic fibrosis of the pancreas. *Ann. Intern. Med.*, **51**, 371—384.
87. MEISTER, A. (1974) Biosynthesis and utilization of glutathione: Enzymological aspects. In: FLOHÉ, L., BENÖHR, H. CH., SIES, H., WALLER, H. D., WENDEL, A. (ed.): *Glutathione*. G. Thieme, Stuttgart. p. 56.
88. MICHALSKI, J. P., TROY, E. D., NORMAN T., HOWARD, M. G. (1975) Beta microglobulin and lymphocytic infiltration in Sjögren's syndrome. *New Engl. J. Med.*, **293**, 1228—1231.
89. MILLEN, J. W., WOLLAM, D. H. M., LAMMING, G. E. (1953) Hydrocephalus associated with deficiency of vitamin A. *Lancet*, **265**, 1234—1236.
90. MILLEN, J. W., WOOLLAM, D. H. M., LAMMING, G. E. (1954) Congenital hydrocephalus due to experimental hypovitaminosis A. *Lancet*, **267**, 679—683.
91. MOORE, T. (1957) *Vitamin A*. Elsevier Publ. Amsterdam—London—New York—Princeton.
92. Idem, *ibidem*, p. 140.
93. Idem, *ibidem*, p. 288.

94. Idem, *ibidem*, p. 336.
95. Idem, *ibidem*, p. 527.
96. Idem, *ibidem*, p. 547.
97. MULDOWNNEY, E. P., CARROL, D. V., DONHOE, J. F., FREANEY, R. (1971) Correction of renal bicarbonate wastage by parathyroidectomy. Implications in acid-base homeostasis. *Quart. J. Med.*, **40**, 487–498.
98. MUNTZ, W. R. A., REUTER, T. (1966) Visual pigments and spectral sensitivity in rana temporaria and other european tadpoles. *Vision Res.*, **6**, 601–618.
99. NEVALAINEN, T. (1969) Fine structure of the parathyroid gland of the laying hen. *Gen. Comp. Endocrinol.*, **12**, 561–567.
100. NIAZI, I. A., SAXENA, S. (1968) Inhibitory and modifying influence of excess of vitamin A on tail regeneration in bufo tadpoles. *Experientia*, **24**, 852–853.
101. NIAZI, I. A., SAXENA, S. (1972) The influence of excess vitamin A on the growth of frog tadpoles with particular reference to thyroid glands. *Rev. Can. Biol.*, **31**, 89–96.
102. NIELSEN, R. (1972) The effect of polyene antibiotics on the aldosterone induced changes in sodium transport across isolated frog skin. *J. Ster. Biochem.*, **3**, 121–128.
103. NORMAN, A. W. (1974) Gegenwärtige Vorstellungen zum biochemischen Wirkungsmechanismus von Vitamin D. *Münch. Med. Wschr.*, **116**, 1585–1598.
104. PABSONS, J. G., POTTS, J. T. (1972) *Clinics in Endocrinology and Metabolism*. Ed. MCINTYRE, Saunders, Co. Phyl.—London—Toronto. Vol. I., No. 1. 33–78.
105. PASTINSZKY, I. RÁCZ, I. (1959) *Belbetegségek története*. Medicina, Budapest, 263–265.
106. Idem, (1974) *Hautveränderungen bei inneren Krankheiten*. VEB Verlag Volk und Gesundheit, Berlin, Vol. I. 432–435.
107. Idem, *ibidem*, Vol. II. 1215.
108. PATAKY, I. (1974) *Új gyógyszerek*. Medicina, Budapest, p. 60, 84.
109. PHILLIS, J. W. (1976) An involvement of calcium and Na, K-ATPase in the inhibitory actions of various compounds of central neurons. In: HUXTABLE, R., BARBEAU, A. (ed.): *Taurine*. Raven Press, New York, 216.
110. PIETRAS, R. J., SEELER, B. J., SZEGŐ, C. M. (1975) Influence of antidiuretic hormone on release of lysosomal hydrolase at mucosal surface of epithelial cell from urinary bladder. *Nature*, **257**, 493–495.
111. POLIN, D., STURKIE, P. D. (1957) The influence of the parathyroids on blood calcium levels and shell deposition in laying hens. *Endocrinology*, **60**, 778–784.
112. PURJESZ, B. (1965) *A belgyógyászat és határterületeinek syndromái*. Medicina, Budapest, p. 399, 456, 539, 667.
113. RAISZ, L. G. (1965) Inhibition by Actinomycin D of bone resorption induced by parathyroid hormone or vitamin A. *Proc. Soc. exp. Biol. Med.*, **119**, 614–617.
114. RAISZ, L. G. (1965) Bone resorption in tissue culture. Factors influencing the response to parathyroid hormone. *J. Clin. Invest.*, **44**, 103–116.
115. RANDOIN, L., LE GALLIC, P. (1948) Vitamin A and vitamin A activity. *C. R. Soc. Biol. Paris.*, **142**, 635–636.
116. RAO, M. S. S., THYAGARAJAN, K., KISHORE, G. S., CAMA, H. R. (1974) Vitamin A metabolism under nutritional stress. *Internat. J. Vit. Nutr. Res.*, **44**, 151–158.
117. RAPOPORT, S. M. (1969) *Medizinische Biochemie*. VEB Volk und Gesundheit, Berlin, 737.
118. RIETZ, P., WISS, O., WEBER, F. (1974) Metabolism of vitamin A and the determination of vitamin A status. *Vitamine and Hormones*, **32**, 237–249.
119. ROGERS, W. E., MEI-LING CHANG, JOHNSON, B. C. (1963) A biologically active metabolite of vitamin A. *Fedn. Proc.* **22**, 433–433.
120. SAGHER, F., EVEN-PAZ, Z. (1967) *Mastocytosis and the mast cell*. Ed. KARGER, S., Basel—New York, 315.
121. SCHAAF, M., PAYNE, C. E. (1966) Dystonic reactions to prochlorperazine in hypoparathyroidism. *New Engl. J. Med.* **275**, 991–995.
122. SCHWANZARA, S. A. (1967) The visual pigments of freshwater fishes. *Vision Res.*, **7**, 121–148.
123. SEIFTER, E., ZISBLATT, M., LEVINE, N., RETTURA, G. (1973) Inhibitory action of vitamin A on murine sarcoma. *Life Sci.*, **13**, 945–952.
124. SHAMBERGER, R. J. (1971) Inhibitory effect of vitamin A on carcinogenesis. *J. Nat. Canc. Invest.*, **47**, 667–673.
125. SMITH, F. R., UNDERWOOD, B. A., DENNING, C. R., VARMA, A., GOODMAN, de W. S. (1972) Depressed plasma retinol binding protein levels in cystic fibrosis. *J. Lab. Clin. Med.*, **80**, 423–433.
126. SPORN, M. B., DUNLOP, N. M., NEWTON, D. L., HENDERSON, W. R. (1976) Relationships between structure and activity of retinoids. *Nature*, **263**, 110–113.

127. SPRECA, A., MODIS, L., CONTI, G. (1971) Behavior of rat mast cells under conditions of high and low vitamin A. *J. Embryol. Exp. Morphol.*, **26**, 459–467.
128. STAHEL, W. (1938) Das Sjögrensche Syndrom und seine Bedeutung. *Helv. Med. Acta*, **5**, 579–583.
129. STEWART, G. S., BOWEN, H. F. (1952) The urinary phosphate excretion factor of parathyroid gland extracts: a hormone or an artefact? *Endocrinol.*, **51**, 80–86.
130. SUNDARESAN, P. R. (1972) Recent advances in the metabolism of vitamin A. *Biochemical Reviews*, **43**, 11–22.
131. SUNDARESAN, P. R., WOLF, G. (1963) Evidence for the participation of A-vitamin, A vitamin-derivate in ATP-sulfurylase action. *Fedn. Proc.*, **22**, 293–293.
132. TANAKA, Y., DE LUCA, H. R. (1973) The control of 25-hydroxyvitamin D metabolism by inorganic phosphorus. *Arch. Biochem. Biophys.*, **154**, 566–574.
133. TCBS (1973) Regulation of vitamin D metabolism. *Nature*, **245**, 180–182.
134. TREMBLAY, G., PEARSE, A. G. E. (1959) A cytochemical study of oxidative enzymes in the parathyroid oxyphil cell and their functional significance. *Exp. Path.*, **40**, 66–70.
135. TREMBLAY, G., CARTIER, G. E. (1961) Histochemical study of oxidative enzymes in the human parathyroid. *Endocrinology*, **69**, 658–661.
136. VARRÓ, V. (1964) *Gastroenterológia*. Medicina, Budapest, 243.
137. VINCENT, S. (1912) *Internal secretion and the ductless glands*. Ed. ARNOLD, London.
138. WALD, G. (1939) The porphyropsin visual system. *J. Gen. Physiol.*, **22**, 775–794.
139. WALD, G. (1946) The metamorphosis of visual system in amphibia. *Biol. Bull.*, **91**, 239–240.
140. WALD, G. (1952) *Modern Trends in Physiology and Biochemistry* Ed. BARRON, E. S. G., Academic Press, New York, 337.
141. WANG, CH. CH., STAIGHT, S., HILL, D. L. (1976) Destabilization of mouse liver lysosomes by vitamin A compounds and analogs. *Biochem. Pharmacol.*, **25**(4), 471–475.
142. WASSERMANN, R. H., CORRADINO, R. A. (1971) Metabolic role of vitamin A and D. In: SNELL, E. E. (ed.): *Ann. Rev. of Biochem.*, Vol. 40., 501–512, 532.
143. WATTSOON, J. (1975) Influence of intracellular levels of cyclic nucleotides on cell proliferation and the induction of antibody synthesis. *J. Exp. Med.*, **141**(1), 97–111.
144. WEBER, R. (1973) Tissue involution and lysosomal enzymes during anuran metamorphosis. In: DINGLE, J. T. and FELL, H. B. (ed.): *Lysosomes in Biology and Pathology*. North Holland, American Elsevier. Vol. 2. Chapter 15. p. 437.
145. WEISSMANN, G. (1961) Alterations in connective tissue and intestine produced by hypervitaminosis A in xenopus laevis. *Nature*, **192**, 235–236.
146. W. H. O. Report (1976) Vitamin A deficiency and xerophthalmia. W. H. O., Geneve, No. 590. p. 24.
147. WIDROW, S. H., LEVINSKY, N. G. (1962) The effect of parathyroid extract on renal tubular reabsorption in the dog. *J. Clin. Invest.*, **41**, 2151–2159.
148. WILLIAMS, C. M., MOORHEAD, L. V., PULIS, J. F. (1959) Juvenil hormone in thymus, human placenta and other mammalian organs. *Nature*, **181**, 405–405.
149. WILLIAMS, R. H. (1968) *Textbook of Endocrinology*. Ed. V. B. SAUNDERS Co., Phyl.—London—Toronto, p. 883.
150. WILLS, M. R. (1970) Fundamental physiological role of parathyroid hormone, in acid-base homeostasis. *Lancet*, **2**, 802–804.
151. WISS, O., GLOOR, V., WEBER, F. (1961) Vitamin A function in ubiquinone and cholesterol biosynthesis. *Am. J. Clin. Nutr.*, **9**, 27–35.
152. WOLF, G., KAHN, S. G., JOHNSON, B. C. (1957) Metabolism studies with radioactive vitamin A. *J. Am. Chem. Soc.*, **79**, 1208–1212.
153. YAGISHITA, K., SUNDARESAN, P. R., WOLF, G. (1964) A biologically active metabolite of vitamin A and vitamin A acid. *Nature*, **203**, 410–412.
154. YAYARAM, M., MURTHLY, S. K., GANGULY, J. (1973) Effect of vitamin A deprivation on the cholesterol side-chain cleavage enzyme activity of testes and ovaries of rats. *Biochem. J.*, **136**, 221–223.
155. YONEMOTO, T., JOHNSON, B. C. (1967) Retinol deficiency and codeine demethylation. *Fedn. Proc.*, **26**, 635–635.
156. ZACHMAN, R. D. (1967) The stimulation of RNA synthesis *in vivo* and *in vitro* by retinol (vitamin A) in the intestine of vitamin A deficient rats. *Life Sci.*, **6**, 2207–2213.
157. ZACHMAN, R. D., OLSON, J. A. (1964) Formation and enterohepatic circulation of water-soluble metabolites of retinol (vitamin A) in the rat. *Nature*, **201**, 1222–1223.
158. ZIEGLER, R., GREBENSTEIN, R., REICHMANN, K., LEMMER, B., MINNE, H., PFEIFFER, E. F. (1969) Hormone-induced phosphaturia. Effect of PTH relative to that of other hormones. *Endokrinologie*, **54**(5–6), 316–326.

THEORETICAL BACKGROUND OF THE RECOGNITION OF A NEW BIOACTIVE SUBSTANCE, LITORALON, ISOLATED FROM THE PARATHYROID. FURTHER THEORETICAL CONSIDERATIONS

L. Feuer

CHINOIN Chemical and Pharmaceutical Works Ltd., Budapest, Hungary

In the course of phylogenesis the parathyroid glands appeared simultaneously with the emergence of land vertebrates and develop during the metamorphosis of anurae. According to our working hypothesis it is not a mere coincidence but a necessity created by terrestrial vertebrate life. The parathyroids play an essential role in the adaptation of land vertebrates to terrestrial conditions by controlling the functions of the aerobiospheric genetic adaptation system (AGAS).

The known hormone of the parathyroid gland, parathormone, exerting a vitamin D-like effect is only partly responsible for the regulation of these functions. The other functions related to genetical adaptation are controlled by another — hitherto unknown — substance of the parathyroids: litoralon, exerting vitamin A-like, and vitamin A metabolism influencing effects.

The functions of the AGAS which, according to our working hypothesis are influenced by parathyroids are as follows:

1. A supportive and protective skeletal system adapted to the excessively reduced buoyancy and resistance of the medium in the changed biosphere.

2. Weight-bearing spheroid joints, supportive bands, tendon sheaths, in association with increased muscular tonicity, and greater complexity of motor coordination adapted to land conditions.

3. Airways and lungs.

4. The integument and its appendages, serving as protection from desiccation and from higher exposure to radiation and ectodermal injuries, consequently also to microbial infections, inherent in terrestrial life.

5. Adaptation to the increased diurnal and seasonal variations of temperature and to other meteorological changes.

6. Capacity to adapt to increased stress effects, and on the other hand protection against the adverse peripheric effects of excessive serum corticoid levels produced by stress.

7. Enhanced immune surveillance. The greater complexity of the somatic structure of terrestrial vertebrates implies a higher rate of spontaneous mutations. At the same time, the ability to recognize the "self" and "non-self" structures aimed at the preservation of the genetic stability of the species, also increases. The mucous membranes performing secretory function in contact with the external world require greater protection from infection.

8. Sense organs adapted to the aerobiosphere.

9. Ion regulation acomodated to the changed biosphere. (Replacement of ion transfer through the ionocytes of the gills exclusively by the transepithelial transport of the kidney and small intestine.) The new respiratory mechanism provides for a greater stability of the acid-base equilibrium.

Examinations started in 1970, and conducted since in cooperation with forty research institutes of this country, have confirmed in many respects our working hypothesis, independent whether they were performed with the natural parathormone-free extract or synthetic litoralon (gamma-L-glutamyl taurine).

Litoralon as a substance with vitamin A-like effect influencing cellular and subcellular membrane permeability, plays an important part in the control of immuno homeostasis and the restitution of immuno anergic states primarily by enhancing the permeability of lysosomal membranes. In transepithelial transport it has an outstanding effect on trace element (Si, Zn, Cu, Mn, F) turnover. It exerts its characteristic mesenchyme activating, and cortisone antagonistic effects — similarly to vitamin A — at the transcription level.

Presumably the two isoprenoid structures modulated by the parathyroid, namely vitamin A and vitamin D₃, as well as their metabolites and analogues play a vital role in the control of metamorphosis in terrestrial life. Litoralon, vitamin A and its analogues exert essentially a retarding effect, parathormone, vitamin D₃, and its analogues an essentially accelerating effect on the metamorphosis of insects, crustacea, amphibians and some plants, with the restriction that the effect of the parathyroid asserts itself only in Amphibia in the modulation of the activities of vitamins A and D₃, respectively. The fact that the deficiency or great excess

of retinoids becomes manifested in foetal malformation also indicate their indispensability in the ontogenesis of terrestrial vertebrates.

Changes in retinoid structure are also involved in biospheric adaptation to freshwater life (shift in the proportion of vitamin A₁ to A₂). It can therefore be assumed that the isoprenoids, and within them the retinoid structures play an essential role in genetical biospheric adaptation, beyond their sensoneural functions based on the well-known cis-trans isomerization (sensory organs).

According to our concept, litoralon had already existed as a neurotransmitter substance prior to the evolution of terrestrial life, and has assumed hormonal functions during adaptation to land conditions. From this aspect its role is analogous to that of the catecholamines and melatonin.

Of its clinical therapeutic effects, primarily its favourable influence on exocrine gland dysfunctions, on the increased liability of the skin and mucous membranes to infection, on certain autoimmune diseases and ankylosing spondylosis should be mentioned. Its favourable effect on muscular tone and mnestic functions, as well as its psychoenergizing action may partly be related to its neurotransmitter activity.

The described working hypothesis leading directly to the disclosure of the active substance named litoralon and of its pharmacological, biochemical and clinical effects has not only helped us to recognize new physiological and biochemical correlations, but implies the possibility of the practical solution of some therapeutic problems.

A SZOMATOSZENZOROS KÉRGI MEZŐK HATÁSA AZ AFFERENS INGERÜLET ÁTTEVŐDÉSÉRE A THALAMUSON KERESZTÜL

LÁNG ESZTER

Semmelweis Orvostudományi Egyetem I. sz. Anatómiai-, Szövet- és Fejlődéstani Intézet,
Budapest

Beérkezett: 1976. június 18-án

Kulcsszavak: Szomatoszenzoros kéreg, kortikofugális hatás, afferens ingerület, thalamus.

Bevezetés

A receptorokból kiinduló afferens szomatikus ingerület egy sor „kapcsoló állomáson” halad keresztül, míg az agykéreghez eljut. E relé-állomások nem egyszerűen az átkapcsolást, hanem az információ részleges feldolgozását is szolgálják. Az ingerületáttevődési folyamatot belső és külső — más struktúrákból származó — hatások befolyásolják.

A szomatoszenzoros rendszer utolsó kéreg alatti kapcsolóállomása a n. ventralis postero-lateralis thalami (VPL). Neuronjain számos, szomatoszenzoros kéregből eredő idegrost végződik [7, 14, 17, 18, 22, 29], amelyek a kortikofugális hatások strukturális alapját képezik. Az irodalmi adatok zöme az I-es szomatoszenzoros agykérgi mező (S_I) thalamusra kifejtett hatására vonatkozik [1, 4, 12, 23, 31], igen kevés az olyan munka, amely a II-es szomatoszenzoros kérgi mező (S_{II}) VPL-re kifejtett hatását is megvilágítaná [6]. Ugyanakkor klinikai megfigyelések, magatartáskutatási [10, 24] és mikroelektrofiziológiai [27] kísérletek, valamint morfológiai vizsgálatok [9] jelentős különbségeket tártak föl az S_I és az S_{II} kérgi mezők között. Volt tehát okunk feltételezni, hogy az S_I és az S_{II} kérgi mezők az afferens ingerület thalamuson keresztül történő átkapcsolódását is különbözőképpen befolyásolják.

Vizsgálatainkban a következő kérdéseket kívántuk tisztázni:

1. Miképp hat az S_I és az S_{II} mező a VPL meghatározott relé-sejt populációjára az afferens ingerület áttevődésének pillanatában? Van-e különbség hatásaik között, s ha igen, miben nyilvánul meg?

2. Hogyan befolyásolja az S_I , illetve az S_{II} mező a VPL adott relé-sejt populációjában az afferens ingerület áttevődését követő utójelenségeket?

Fölmerült a kérdés, hogy a kérgi hatásokat az afferens transzmisszió milyen indikátorán kívánjuk lemérni. A szomatikus ingerület thalamuson keresztüli áttevődésének indikátoraként olyan biopotenciált kívántunk választani, amely megfelel az alábbi kritériumoknak:

1. A VPL adott relé-sejt populációjának afferens inger által kiváltott együttes kisülését tükrözze.

2. Egyszerű, egyértelműen magyarázható hullámforma legyen.

3. Lehetőleg ne befolyásolják az ingerület útjában levő más relé-állomásokban (hátsó-köteg magvak) lejátszódó folyamatok.

Ezeknek a kritériumoknak leginkább a lemniscus medialis (LM) ingerlésével kiváltott thalamo-corticalis (TC) rostkötegből elvezetett válaszreakció felel meg. Rostkötegből regisztrált fieldpotenciál amplitúdója monoton függvénye az aktív rostok számának [16], vagyis ez esetben, a reakcióban résztvevő relé-sejtek mennyiségének. Így a TC rostkötegből elvezetett válaszreakció amplitúdójának növekedéséből vagy csökkenéséből a LM ingerlésére ki-sülő relé-sejtek számának viszonylagos változására következtethetünk.

A LM egyszeri ingerlésével kiváltott TC válasz alapján azonban nem következtethetünk azokra a folyamatokra, amelyek a VPL relé-sejtjeiben az afferens ingerület áttevődését követően játszódnak le. A kérgi mezők ez utó-jelenségekben játszott szerepének vizsgálatához indikátorként a fenti válaszreakció visszatérési ciklusát (recovery cycle) használtuk.

A kortikofugális hatásokat vizsgálhatjuk a kérgi mezők aktiválása vagy éppen inaktiválása révén. Mindkét módszert alkalmaztuk. Miután azonban kísérleti állatainkat nembutállal narkotizáltuk, az pedig csökkenti a kérgi mezők szabályozó hatását [8], a kéreg aktivációjától többet vártunk, mint az amúgy is legyengített kérgi aktivitás további csökkentésétől. A kéreg elektromos ingerlésekor a VPL relé-sejtjei antidrom úton is ingerületbe jönnek, ezért ettől a módszertől eltekintettünk. A szomatoszenzoros kérgi mezők fokozott ingerületi állapotát penicillin helyi alkalmazásával, lokális epilepsziás góc létrehozásával értük el.

Anyag és módszer

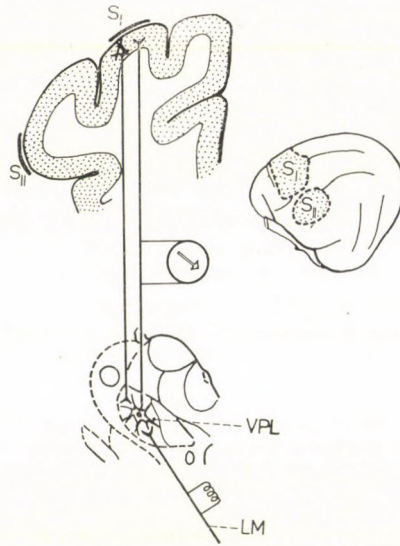
Narkózis, preparálás

Kísérleteinket 39 db 2,5—4 kg-os hím és nőstény macskán végeztük. A kísérleti állatoknál bevezető nembutál narkózist alkalmaztunk (40 mg/kg i. p.). Ezután vénát és artériát preparáltunk további intravénás készítmények bevezetése és vérnyomásmérés céljából. Kanült vezetünk a tracheába és mester-séges lélegeztetést alkalmaztunk, miután az állatokat Flaxedillel immobilizál-tuk. A kísérlet folyamán Di Adresont adagoltunk sokk elkerülése céljából. A vérnyomást folyamatosan ellenőriztük, az állat hőmérsékletét megközelítően állandó értéken tartottuk (rectalis hőmérséklet 37 °C körül).

Az állat fejét sztereotaxiás készülékben rögzítettük. A koponyacsontot a baloldali S_1 és S_{11} kérgi mezők felett eltávolítottuk és meleg fiziológias só-oldattal a felszint nedvesen és megfelelő hőmérsékleten tartottuk. A sebszéleket novocainnal infiltráltuk.

Ingerlés, elvezetés

Az ingerlő koncentrikus fémelektrodát (pólusok közötti távolság: 1—1,5 mm) sztereotaxiás műszer segítségével a LM-ba vezettük a JASPER és AJMONE-MARSAN-féle atlasz [13] koordinátái szerint (F: 5,0; L: 4,5—5,0; V: —2,0), a hasonló regisztráló elektrodát pedig az S_1 mező mellsővégtag reprezen-tációs területe felé futó thalamo-corticalis rostokba (TCS_1) helyeztük el (F: 16; L: 8,0). Az LM-ba sztereotaxiás úton bevezetett elektróda helyét mellsővégtag ingerlésével kiváltott tipikus LM reakció alapján ellenőriztük és korrigáltuk. Az elvezető elektróda végleges helyét a thalamo-corticalis rostok azon pont-



1. ábra. A kísérleti elrendezés vázlatja
 Fig. 1. Sketch of the experimental set-up

jában állapítottuk meg, ahonnan LM ingerlésére maximális amplitúdójú tipikus választ vezetünk el. Az EEG-t monopolarisan 0,3 mm átmérőjű ezüst gömbelektrodákkal regisztráltuk (1. ábra).

A LM ingerlését DISA multistimmel, illetve ESZU biológiai elektrostimulátorral végeztük (ingerparaméterek: 0,3 Hz; 100 mikrosecc; 10 V négyszögimpulzusok). A LM ingerpárokkal történő ingerlésénél (a válaszreakció visszaterési ciklusának meghatározására) a kondicionáló- és teszt-inger közötti intervallumot 3 ms-től 500 ms-ig 26 lépésben változtattuk (3—10 ms-ig 1 ms-ként, 10—100 ms-ig 10 ms-ként, 100—200 ms-ig 20 ms-ként, 200—300 ms-ig 50 ms-ként, 300—500 ms-ig 100 ms-ként).

A potenciálok amplitúdóját oszcilloszkóp ernyőről mértük, ugyanakkor FM magnetofonnal is rögzítettük. Az adatfeldolgozást FACOM-R típusú számítógépen végeztük.

A kéreg aktiválása (epilepsziás góc létrehozása)

Az S_I , illetve az S_{II} kérgi mezőkre penicillines oldatba mártott (100 000 NE/ml fiz. só) szűrőpapír darabkákat helyeztünk, amelyeket néhány percre hagytunk a pián. Az EEG-t folyamatosan ellenőriztük helyileg és az agykéreg különböző pontjain, contralateralisan is.

A kéreg inaktiválása (koaguláció)

A szomatoszenzoros kérgi zónák termokoagulációját kettős céllal végeztük.

1. Először is biztosítani kívántuk annak a lehetőségét, hogy az S_I , illetve az S_{II} mezők hatását egymástól izoláltan tudjuk vizsgálni. E célból a szomato-

szenzoros mezők valamelyikén penicillin kisüléseket indukáltunk, és eközben a másik mezőt koaguláltuk, részben, hogy megakadályozzuk a spike-ok közvetlen ráterjedését erre a mezőre is, részben, hogy megszakítsuk a két kérgi mező közötti kapcsolatot. Hasonló célt szolgáltak az olyan kísérletek is, amikor az $S_I + S_{II}$ mezőre szimultán penicillint helyeztünk, és miután mindkét mező felszínéről görcspotenciálokat vezettünk el, az egyik mezőt koaguláltuk. Így lehetőségünk nyílt a két mező együttes és külön-külön kifejtett hatásának az összehasonlítására.

2. A koaguláció másik célja az volt, hogy a penicillinnel aktivált kérgi mező hatását hirtelen megszüntessük, s ily módon kontrollálhassuk, hogy a thalamikus áttevődésben beállott változásokért valóban az adott kéregterület volt-e a felelős. A koagulációt kis gömbvégződésű elektromos termokauterrel végeztük, amely lehetővé tette a vérzésmentes, kis, jól körülhatárolt léziókat is.

Adatfeldolgozás

A LM ingerlésével kiváltott TC rostkötegből elvezetett válaszreakció visszatérési ciklusának (recovery cycle) meghatározására a kondicionáló- és teszt-ingerek közötti intervallumot 26 lépésben változtattuk. Valamennyi intervallumnál 20 tesztválasz (x_i), illetve kondicionáló válasz (x_k) értékét mértük. Ebből számítottuk intervallumonként a tesztválaszok átlagát (\bar{x}), standard deviációját (S), variációs koefficiensét (CV), valamint a kondicionáló válaszok átlagértékét (\bar{x}_k), standard deviációját (S_k) és variációs koefficiensét (CV_k). Valamennyi intervallumnál a tesztválaszokból számított értékeket a megfelelő kontroll értékekhez viszonyítottuk, s így kaptuk a relatív átlagértéket $\left(x_{rel} = \frac{\bar{x}}{\bar{x}_k}\right)$; a relatív standard deviációt $\left(S_{rel} = \frac{S}{S_k}\right)$; és a relatív variációs koefficienset $\left(CV_{rel} = \frac{CV}{CV_k}\right)$.

E méréseket, illetve számításokat elvégeztük:

1. a kísérlet kezdetén a penicillin alkalmazása előtt;
2. miután penicillin alkalmazásával görcspotenciálokat váltottunk ki mindkét szomatoszenzoros kérgi mezőben;
3. miután mindkét mező penicillines aktivációját követően az egyik szomatoszenzoros mezőt (S_I -t vagy S_{II} -t) koaguláltuk;
4. a penicillinnel aktivált $S_I + S_{II}$ mezők együttes eltávolítása után.

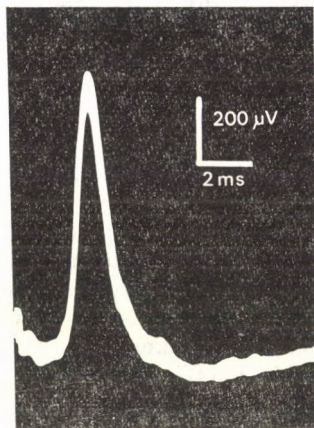
A kísérlet egyes fázisait páronként összehasonlítottuk. Az összehasonlított fázisok megfelelő intervallumaihoz tartozó relatív átlagértékek (\bar{x}_{rel}) különbségeinek szignifikanciáját t-próbával $P = 5\%$, illetve $P = 1\%$ szinten számítottuk.

Ezenkívül összehasonlítottuk a kísérlet fenti fázisaiban (1, 2, 3, 4) mért kondicionáló válaszok átlagértékeit.

Eredmények

A szomatoszenzoros kérgi mezők hatása az afferens ingerület VPL-n keresztül történő átvezetésére

A LM ingerlésével az S_I mezőhöz futó thalamo-corticalis rostokból (TCS_I) 1,5 ms latenciájú, 400–600 mikroV amplitúdójú rövid (1–1,5 msec tartamú) válaszreakció vezethető el (2. ábra).



2. ábra. A lemniscus medialis ingerlésével kiváltott, S_I mezőhöz futó thalamo-corticalis rostokból regisztrált válaszreakció (szuperponált görbe)

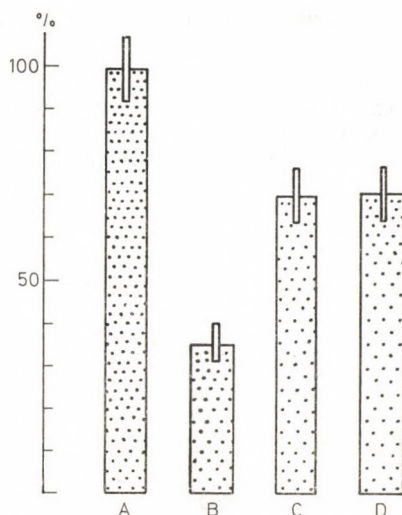
Fig. 2. Response to stimulation of the medial lemniscus, running to area S_I , recorded from the thalamo-cortical fibres (superimposed curves)

Miután penicillin helyi alkalmazásával egyidejűleg mindkét szomatoszenzoros kérgi mezőben görcspotenciálokat váltottunk ki (EEG-ben 500 mikrosec-ként ritmikusan megjelenő 1 mV-t elérő penicillin spike-ok) a LM ingerlésével kiváltott TCS_I válasz amplitúdója lecsökkent, s a kiindulási értéknek mindössze 30–35%-t tette ki (3. ábra).

E hatás kiváltását követően a kísérleti állatok első csoportjánál az S_I kérgi mezőt, második csoportjánál pedig az S_{II} mezőt koaguláltuk. Az S_I mező izolált koagulációját követően a TCS_I válasz amplitúdója a kiindulási érték 70–75%-ra nőtt, míg az S_{II} mező izolált koagulációja nem befolyásolta szignifikánsan a TCS_I válasz csökkent amplitúdóját.

E hatások regisztrálását követően a kísérleti állatok első csoportjánál a koagulációt kiterjesztettük az S_{II} mezőre, a második csoportnál pedig az S_I mezőre. Az $S_I + S_{II}$ mezők ily módon történt együttes koagulációjának hatása a TCS_I válasz amplitúdójára megegyezett az S_I mező izolált koagulációjának hatásával.

Néhány kísérleti állatnál penicillin helyi alkalmazása előtt koaguláltuk az S_{II} mezőt, majd penicillint helyeztünk az S_I mezőre. Az S_I mezőben ritmikusan (kb. 2 Hz) jelentkező görcspotenciálokkal egyidejűleg a TCS_I válasz amplitúdója a kiindulási érték 30–35%-ra csökkent.



3. ábra. A lemniscus medialis ingerlésével kiváltott, thalamo-corticalis rostoktegből regisztrált válaszreakciók viszonylagos értékei: A — penicillin alkalmazása előtt; B — az $S_I + S_{II}$ kérgi mezők penicillinnel való aktiválása után; C — a két mező penicillines aktivációját követően az S_I mező koagulálása után; D — a penicillinnel aktivált $S_I + S_{II}$ mezők együttes eltávolítása után

Fig. 3. Relative values of responses to stimulation of the medial lemniscus, recorded from the thalamo-cortical fibres: A — Before application of penicillin; B — After activation of the cortical areas S_I and S_{II} by penicillin; C — After coagulation of area S_I following previous activation of both areas by penicillin; D — After removal of both areas, S_I and S_{II} , following previous activation by penicillin

3 esetben a kísérlet elején eltávolítottuk mindkét szomatoszenzoros kérgi mezőt, s a penicillint a fehérállományra helyeztük. Ezekben az esetekben a TCS_I válasz semmiféle változása nem volt tapasztalható.

Valamennyi esetben tehát az LM ingerlésével kiváltott TCS_I válasz amplitúdójának nagymérvű csökkenéséért az S_I mezőben létrehozott epilepsziás góc volt felelős.

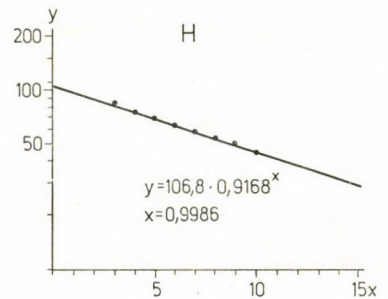
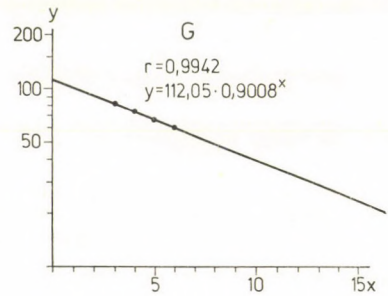
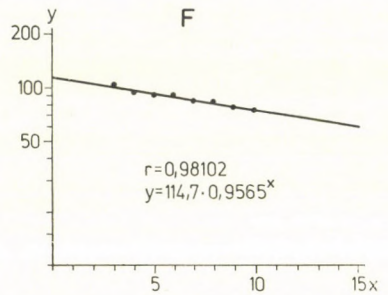
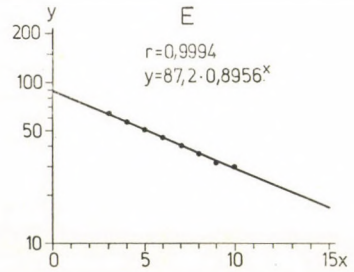
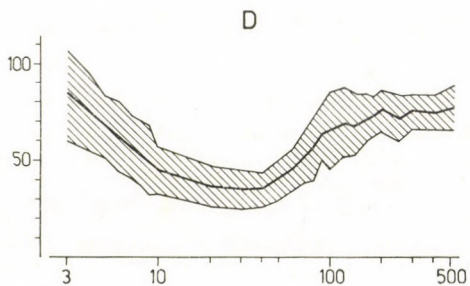
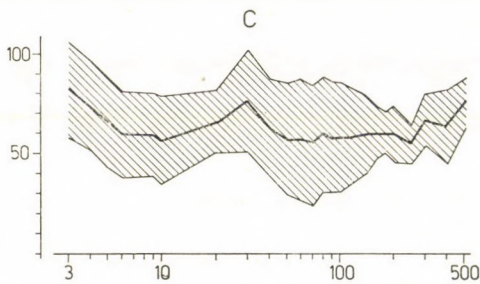
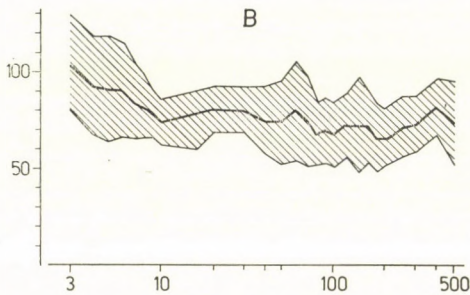
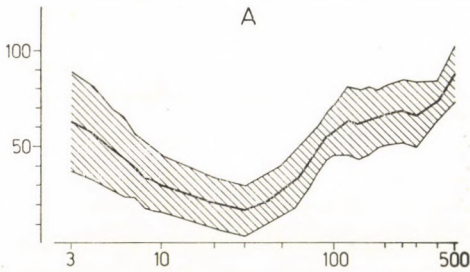
A szomatoszenzoros kérgi mezők hatása az afferens ingerület thalamikus áttevődését követő utófolyamatokra

A LM ingerlésével kiváltott TCS_I válaszoknak a kísérletek különböző stádiumaiban felvett visszatérési ciklus-görbéi (4. ábra A—D-ig) jelentős különbségeket mutatnak.

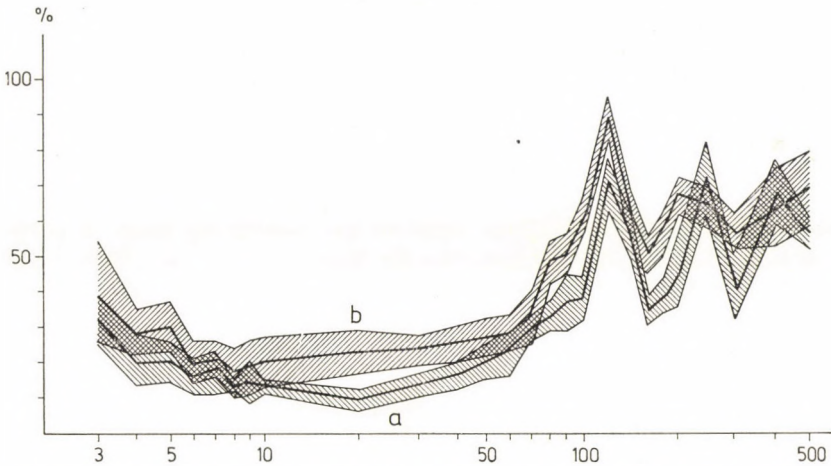
1. A kísérlet kezdeti szakaszában a kérgi mezők aktivációját megelőzően felvett görbe (kontroll görbe) nembutál narkózisra jellemző (4. ábra A). A testválasz értéke a késleltetés növekedtével 25—30 msec-ig csökken, itt minimumot ér el (a kondicionáló válasz értékének 20%-át teszi ki mindössze). Ezt követően a testválasz értéke újra emelkedik s az ingerimpulzusok közötti 500 ms-os intervallumnál eléri a kondicionáló válasz értékének 80%-át. A görbe kezdeti szakasza (3—10 msec-ig) jól közelíthető exponenciális függvényvel ($y = 87,2 \cdot 0,8956^x$, $r = 0,999$). A görbe e kezdeti szakaszát külön

ábrázoltuk logaritmus-lineáris léptékben s az ábrába berajzoltuk a közelítő egyenest is (4. ábra E).

Említésre méltó, hogy az egyes kísérletekre jellemző görbéken 2 lokális maximum észlelhető 104 ± 24 és 226 ± 30 msec-nál (5. ábra „a” görbe). A testválasz értékeinek ezek az ingadozásai az összesített görbén nem észlelhetők, mivel azok egyes kísérletekben időben egymástól kissé eltoltan jelentkeznek.



2. Miután penicillin helyi alkalmazásával az $S_I + S_{II}$ kérgi mezőkben görcspotenciálokat hoztunk létre (kb. 2 Hz frekvenciával jelentkező 1 mV-t elérő penicillin kisülések) a LM ingerlésével kiváltott TCS_I válasz visszatérési ciklusa a 4B ábrán látható módon alakult. A tesztválasznak a kísérlet 1. stádiumában tapasztalt 30 msec-os intervallumnál bekövetkező nagyfokú gátlása itt nem mutatkozik. A görbe kezdeti szakasza (3—10 msec) ebben az esetben



5. ábra. A medialis lemniscus ingerlésével kiváltott, thalamo-corticalis rostkötegből regisztrált válasz visszatérési ciklus-görbéi (egyedi görbék): a — penicillin alkalmazása előtt; b — a penicillinnel aktivált $S_I + S_{II}$ mezők együttes eltávolítása után

Fig 5. Recovery Cycle of the response to stimulation of the medial lemniscus recorded from the thalamo-cortical fibres (individual curves): a — Before application of penicillin; b — After removal of both areas, S_I and S_{II} , following previous activation by penicillin

is jól közelíthető exponenciális függvényvel ($y = 114,7 \cdot 0,9565^x$, $r = 0,98102$) (4. ábra F). Az egyedi görbéken sem észlelhető a kísérlet 1. stádiumára jellemző két lokális maximum.

4. ábra. A—D-ig: A lemniscus medialis ingerlésével kiváltott, thalamo-corticalis rostkötegből regisztrált válasz visszatérési ciklus (recovery cycle) diagramjai: abszcissa: kondicionáló- és teszt-inger közötti intervallum (msec-ban); ordinata: tesztválasz értéke a kondicionáló válasz %-ban. Vastag vonallal a relatív átlagértékeket, vékony vonallal a relatív standard deviációt jelöljük (definíciókat lásd a szöveg „adatfeldolgozás” c. pontjában.) E—H-ig: Az A—D görbék kezdeti szakaszait közelítő exponenciális függvények: A, E — penicillin alkalmazása előtt; B, F — S_I és S_{II} mezők penicillines aktiválása után; C, G — a két mező együttes penicillines aktivációját követően az S_I mező koagulálása után; D, H — a penicillinnel aktivált $S_I + S_{II}$ mezők együttes eltávolítása után

Fig. 4. A—D: Diagramms of the recovery cycle of the response to stimulation of the medial lemniscus recorded from the thalamo-cortical fibres (superimposed curves): abscisse: intervallum (in msec) between conditioning and test stimuli; ordinate: test response in percent of conditioning response; heavy line: relative average values; thin line: relative standard deviation (for definition, see “evaluation of data”, section c.) E—H: Exponential functions approximating the initial parts of curves A—D: A, E — Before application of penicillin; B, F — After activation of the cortical areas S_I and S_{II} by penicillin; C, G — After coagulation of area S_I following previous activation of both areas by penicillin; D, H — After removal of both areas, S_I and S_{II} , following previous activation by penicillin

3. A kísérleti állatok egy csoportjánál az $S_I + S_{II}$ mezők penicillinnel történő aktiválását követően az S_I mezőt koaguláltuk, míg az S_{II} mező felszínéről továbbra is penicillin kisüléseket regisztráltunk. A kísérletnek ebben a szakaszában mért visszatérési ciklus-görbét a 4C ábra szemlélteti. A késleltetési idő növelésével a tesztválasz értéke kezdeti csökkenés után emelkedni kezd és az inger impulzusok közötti 25—30 msec-os intervallumnál a kondicionáló válasz értékének 80%-át éri el. Ezt követően a tesztválasz csökkenő tendenciát mutat, majd a kondicionáló- és teszt-ingerek közötti 50 msec-os intervallumnál újból emelkedni kezd. A görbének csupán rövidebb kezdeti szakasza (3—6 msec) közelíthető jól exponenciális függvénnyel ($y = 112,05 \cdot 0,9008^x$, $r = 0,9942$) (4. ábra G).

4. Az előzetesen penicillinnel aktivált $S_I + S_{II}$ mezők együttes termo-koagulációja után a visszatérési ciklus-görbe jellege a kísérlet kezdetén felvett kontroll görbéhez válik hasonlónak (4. ábra D). A tesztválasz értéke a kondicionáló- és teszt-ingerek közötti 30 msec-os intervallumnál csökken a minimumra, s a késleltetés további növelésével újra emelkedni kezd. A görbe kezdeti szakasza jól közelíthető exponenciális függvénnyel ($y = 106,08 \cdot 0,9168^x$) (4. ábra H). Az egyedi görbéken 2 lokális maximum figyelhető meg (5. ábra „b” görbe).

Megvitatás

A mesterségesen létrehozott epilepsziás gócban a legjellemzőbb elváltozás a kérgi neuronok membránjának normál EPSP-t meghaladó depolarizációja, melyet magas frekvenciájú kisülés-sorozat kísér [11, 26]. Az EEG-ben regisztrált penicillin spike-nak tehát a kérgi piramis sejtek magas frekvenciájú szinkron kisülései felelnek meg. Az interiktális periódusban az epilepsziás gócot széli gátolt terület veszi körül, ahol a sejteknél nem a depolarizáció, hanem a hiperpolarizáció dominál. Az iktális periódusban azonban ezek a sejtek is aktiválódnak [5, 25]. Kísérleteinkben fokális epilepsziás góc létrehozásával a piramis sejtek s így a kortikofugális rostok nagyfokú szinkron aktivitását váltottuk ki.

Amint már említettük, az LM ingerlésével kiváltott TCS_I válasz amplitúdó változásából az afferens ingerre válaszoló VPL relé-sejtek számának változására következtethetünk. Az S_I kérgi mezőben létrehozott epilepsziás góc hatására csökkent a fenti válasz értéke, ami arra utal, hogy csökkent az afferens ingerület átadásában résztvevő relé-sejtek száma. Ez arra enged következtetni, hogy S_I mező piramis sejtjeinek penicillin spike-okkal összefüggő nagyfokú aktivitása olyan tónusos hatást gyakorol a VPL relé-sejtjeinek meglehetősen nagy részére, hogy azok képtelenné válnak az afferens ingerület átadására.

Milyen mechanizmusok révén valósulhat meg az S_I mező fenti hatása? Néhány lehetőséget felsorolunk.

1. Az S_I mezőből eredő kortikofugális rostok gátló jellegű szinapszisekat alkotnak közvetlenül a relé-neuronokon, így aktivitásuk révén a relé-sejtekben gátló posztszinaptikus potenciál alakul ki.

2. A kortikofugális rostok ingerlő jellegű szinapszisekat alkotnak a VPL gátló interneuronjain s ezek közbeiktatásával gátló posztszinaptikus potenciált hoznak létre a relé-sejtekben.

3. A kortikofugális rostok ingerlő jellegű szinapszisokat alkotnak a relé-neuronokon, s így aktivitásukkal a sejtek depolarizációját váltják ki. Magas frekvenciájú preszinaptikus ingerlés esetén a posztszinaptikus membrán intenzív, tartós depolarizációja léphet föl, amely az akciós potenciál kialakulását megakadályozhatja [19, 30]. Tehát ez esetben a kortikofugális hatás depolarizációsblokk révén valósul meg.

4. A kortikofugális rostok aktivitása révén egyes relé-sejtek ingerületbe jönnek és visszakanyarodó axonkollaterálisaik útján gátló interneuronok közbeiktatásával a környező relé-sejteket gátolják.

Saját elektronmikroszkópos vizsgálataink [18, 21, 22] valamint irodalmi adatok [15, 28] szerint az S_{II} mezőből származó kortikofugális rostok a VPL-ben a relé-sejtek, valamint az interneuronok dendritjein kizárólag kerek szinaptikus vezikulákat tartalmazó szinapszisokat alkotnak. Az ilyen típusú szinapszisokat jelenleg az irodalom excitatorikus jellegű szinapszisként tartja számon [32]. E morfológiai megfigyelések nem valószínűsítik a kortikofugális hatás 1. pontban vázolt mechanizmusát, sokkal inkább a 3. pontban említett lehetőséget támasztják alá. Morfológiai vizsgálatok szerint [18, 21, 22] a kortikofugális rostok többsége relé-neuronokkal szinaptizál, jóval kisebb hányada végződik interneuronokon. Ezért kevés a valószínűsége annak, hogy az S_{II} mező masszív kortikofugális hatásért egyedül a 2. pontban vázolt módon fejtené ki. Valószínűbb, hogy a 2., 3. és 4. pontokban leírt feltételezések együttesen valósulnak meg.

A VPL relé-sejtjeiben az afferens ingerület áttevődését gátló folyamat követi [2, 3]. Ez tükröződik az LM ingerlésével kiváltott TCS_I válasz visszatérési ciklusában. Függetlenül a kérgi mezőkre alkalmazott különféle ráhatásoktól, az afferens ingerület átadását követően a gátló utófolyamat kialakulása megkezdődik. Erre mutat az a tény is, hogy kísérleteink valamennyi stádiumában a visszatérési ciklus-görbe kezdeti szakaszai olyan exponenciális függvényekkel approximálhatók, melyeknek alapjai igen közeli értékűek (0,8956; 0,9565; 0,9168; 0,9008). E tény összhangban áll Andersen feltételezésével, miszerint a gátló utófolyamat thalamuson belüli mechanizmusok révén valósul meg.

A 4C ábrán látható görbe lefutása arra utal, hogy a belső gátló utófolyamatot az S_{II} kérgi mező indukálta facilitáció fedi. Feltételezésünk szerint az S_{II} mező közvetett úton fejti ki facilitáló hatását a VPL S_I kérgi mező mellsővégtag reprezentációs területéhez proiciáló relé-neuronjaira. Feltételezésünket morfológiai vizsgálatainkból nyert adatokra alapozzuk. Ezek szerint a VPL-nek azon a területén, ahol a fentemlített relé-sejtek elhelyezkednek, elenyészően kevés az S_{II} mezőből eredő kortikofugális rostvégződések száma.

1. táblázat

	y ($x = 3$ msec)	A LM ingerlésével kiváltott TCS_I vá- laszok viszonylagos értékei
1. stádium	62,64	100%
2. stádium	100,37	30%
4. stádium	82,29	70%

Nincs kizárva, hogy az S_{II} mező reticularis struktúrák aktivizálása révén fejti ki hatását. Ezt a lehetőséget támogatja az a tény, hogy a formatio reticularis aktiválása bizonyos vonatkozásban hasonlóképpen befolyásolja a TCS_1 válasz visszatérési ciklusát, mint a penicillinnel aktivált S_{II} kérgi mező [20].

Megemlítendő, hogy kísérleteink egymást követő stádiumaiban mért visszatérési ciklus-görbék különböző elemszámú relé-sejt populációk viselkedését tükrözik. Különböző kísérleti feltételek mellett ugyanis az afferens ingerület átadásában a relé-sejtek különböző hányada vesz részt (3. ábra).

Táblázatban szemléltetjük az összefüggést a különböző kísérleti feltételek mellett felvett visszatérési ciklus görbék kezdeti szakaszait közelítő exponenciális függvényeknek az $x = 3$ msec helyen felvett értékei, valamint a kísérlet megfelelő szakaszában a kondicionáló ingerrel kiváltott válasz amplitúdó értékei között.

Ennek alapján feltételezzük, hogy a reakcióban résztvevő elemek száma bizonyos befolyással bír a gátló utófolyamat jellegére.

Összefoglalás

39 macskánál akut kísérletben (bevezető nembutál narkózis, immobilizáció flaxedilrel) az S_I és S_{II} kérgi mezők hatását vizsgáltuk az afferens ingerület thalamuson keresztül történő áttevődésére. Indikátorként a lemniscus medialis ingerlésével kiváltott, S_I kérgi mezőhöz futó thalamo-corticalis rostokból regisztrált válaszreakció amplitúdója és visszatérési ciklusa (recovery cycle) szolgált (az ingerlés paraméterei: 0,3 Hz, 100 mikrosec négyszögimpulzusok, a kondicionáló- és teszt-ingerrek közötti intervallumot 3 ms—500 ms-ig változtattuk).

Az S_I és S_{II} kérgi mezőkben penicillin helyi alkalmazásával görcspotenciálok hoztunk létre. Ezt követően a fenti válaszreakció amplitúdója a kiindulási érték 30%-ára csökkent, majd az S_I mező koagulációjának hatására újból megnőtt és elérte a kiindulási érték 70%-át. A két mező ($S_I + S_{II}$) együttes penicillines aktivációját követően az S_{II} mező izolált koagulációja nem befolyásolta a válasz amplitúdóját. Következésképpen az S_I mező fokozott aktivitása a VPL relé-sejtjeinek bizonyos hányadában megakadályozta az afferens ingerület áttevődését. Az S_{II} mező fokozott aktivitása az afferens ingerület áttevődését követő utófolyamatokat befolyásolta. Az S_{II} mezőben generált penicillin kisülések hatására a visszatérési ciklusban kifejezett facilitáció figyelhető meg. A különböző kísérleti feltételek mellett a visszatérési ciklus-görbék kezdeti szakaszát jól közelítő exponenciális függvények alapjai közel azonos értékűek. A függvények $x = 3$ msec-nál felvett értékei és a reakcióban résztvevő relé-sejtek mennyisége között összefüggés mutatkozik.

IRODALOM

1. ANDERSEN, P. (1967) Cortico-thalamic facilitation of somatosensory impulses. *Nature*, **214**, 1011—1012.
2. ANDERSEN, P., BROOKS, C. M., ECCLES, J. C. and SEARS, T. A. (1964) The ventro-basal nucleus of the thalamus: potential fields, synaptic transmission and excitability of both presynaptic and postsynaptic components. *J. Physiol. (Lond.)*, **174**, 348—369.
3. ANDERSEN, P. and ECCLES, J. C. (1962) Inhibitory phasing of neuronal discharge. *Nature*, **196**, 645—647.

4. ANDERSEN, P., JUNGE, K. and SVEEN, O. (1972) Corticofugal facilitation of thalamic transmission. *Brain, Behavior and Evolution*, **6**, 170—186.
5. ANGELERI, F., GIAQUINTO, I. and MARCHESI, G. F. (1972) Temporal distribution of interictal and ictal discharges from Penicillin foci in cats. In: PETSCHÉ, H., BRAZIER, M. A. (eds): *Synchronization of EEG activity in Epilepsies*. Springer Verlag, Wien—New York, 221—234.
6. BURCHFIELD, J. L. and DUFFY, F. H. (1974) Corticofugal influence upon cat thalamic ventrobasal complex. *Brain Research*, **70**, 395—411.
7. DE VITO, J. L. (1967) Thalamic projection of the anterior ectosylvian gyrus (somatic area II) in the cat. *J. comp. Neurol.*, **131**, 67—78.
8. DURINIÁN, R. A., GLÁNC, V. L. and RABIN, A. G. (1971) Nejfiziologicseszkiye mehanyizmi gyejsztvíja barbiturátov na projekcionnije szisztémi mozga. *Zsurn. Viszs. nervn. gyejat.*, **21**, 6.
9. ELISEYEVA, Z. V. and DURINIÁN, R. A. (1968) Some peculiarities of the structural organization of somatosensory cortex I and II in the cat. *Brain Research*, **11**, 305—315.
10. GLASSMAN, R. B. (1970) Cutaneous discrimination and motor control following somatosensory cortical ablations. *Physiol. Behav.*, **5**, 1009—1019.
11. GOLDENSOHN, E. S. and PURPURA, D. P. (1963) Intracellular potentials of cortical neurons during focal epileptogenic discharges. *Science*, **139**, 840.
12. IWAMA, K. and YAMAMOTO, C. (1961) Impulse transmission of thalamic somato-sensory relay-nuclei as modified by electrical stimulation of the cerebral cortex. *Jap. J. Physiol.*, **11**, 169—182.
13. JASPER, H. H. and AJMONE-MARSAN, C. (1954) *Stereotaxic atlas of the diencephalon*. National Research Council of Canada, Ottawa.
14. JONES, E. G. and POWELL, T. P. S. (1968) The projection of the somatic cortex upon the thalamus in the cat. *Brain Research*, **10**, 369—391.
15. JONES, E. G. and POWELL, T. P. S. (1969) Electron microscopy of synaptic glomeruli in the thalamic relay nuclei of the cat. *Proc. Roy. Soc. (Lond.)*, Sr. B., **172**, 163—171.
16. KATZ, B. (1966) Nerve, muscle and synapse. McGraw-Hill, New York.
17. KAWANA, E. (1969) Projections of the anterior ectosylvian gyrus to the thalamus, the dorsal column nuclei, the trigeminal nuclei and the spinal cord in cats. *Brain Research*, **14**, 117—136.
18. KISS, J., HAJDU, F., LÁNG, E. (1975) Projections of somatosensory areas S₁ and S₂ to the VB complex studied by experimental degeneration and autoradiographic examination. 2nd International Congress of C. I. A. S. Prague Czechoslovakia, 421.
19. KOSZTJUK, P. G. (1969) Tormozsenije. In: *Rukovodstvo po fiziologii Obscsaja i casztnaja fiziologija nervnoj szisztémi*. Nauka, Leningrad.
20. LÁNG, E. and DURINIÁN, R. (1977) Zaviszimoszty ot szosztóányinán szna i bodrsztvóányijá peredáci afferentnovo szignála cserez zadnyeje ventralnoe jadro talamusza. *Bjull. exper. biol.* N° 4, 387—390.
21. LÁNG, E., HAJDU, F. and KISS, J. (1976) A somatosensoros kérgi mezők thalamusra kifejtett hatása és ennek strukturális alapjai. MÉT XLII Vándorgyűlése, 1976 Budapest, Előadáskivonatok 35. old.
22. LÁNG, E., KISS, J. and HAJDU, F. (1977) Kombinyirovannoje morfologicseszkoje isszedoványije projekcij I-ój i II-ój szomatoszenszornih oblasztyej kori v zadnyem ventralnom jadre. *Bjull. exper. biol.* N° 5, 604—607.
23. OGDEN, T. E. (1960) Cortical control of thalamic somatosensory relay nuclei. *Electroenceph. clin. Neurophysiol.* **12**, 612—634.
24. ORBACH, J. and CHOW, K. L. (1959) Differential effects of resection of somatic areas I and II in monkeys. *J. Neurophysiol.* **22**, 195—203.
25. PRINCE, D. A. (1969) Microelectrode studies of penicillin foci. In: JASPER, H. H., WARD, A. A. Jr., and POPE, A. (eds): *Basic mechanisms of the epilepsies*. Little, Brown and Co. Boston.
26. PRINCE, D. A., FUTAMACHI, K. J. (1968) Intracellular recordings in chronic focal epilepsy. *Brain Research*, **11**, 681—684.
27. POGGIO, P. G. and MOUNTCASTLE, V. B. (1960) A study of the functional contributions of the lemniscal and spinothalamic systems to somatic sensibility. Central nervous mechanisms in pain. *Bull. Johns. Hopk. Hosp.*, **106**, 266—316.
28. RALSTON, J. H. (1973) Somatosensory projections to the thalamus of the cat. *Anat. Rec.*, **175**, 419—420.
29. RINVIK, E. (1968) The corticothalamic projection from the second somatosensory cortical area in the cat. An experimental study with silver impregnation methods. *Exp. Brain Res.*, **5**, 153—172.

30. SAPOVALOV, A. I. (1963) Tormozsenije Vvedenskovo v szinpszah szpinnovo mozga. *Fiziol. zsur.* SzSzSz, 49, 685.
31. SHIMIZU, H., YANAGISAWA, N. and GAROUTTE, B. (1965) Corticopyramidal influences on thalamic somatosensory transmission in the cat. *Jap. J. Physiol.*, 15, 101–134.
32. UCHIZONO, K. (1965) Characteristics of excitatory and inhibitory synapses in the central nervous system of the cat. *Nature*. 207, 642–643.

EFFECTS OF SOMATOSENSORY AREAS S_I AND S_{II} UPON TRANSMISSION THROUGH THE THALAMUS IN CATS

E. Láng

Semmelweis Medical University I. Institute of Anatomy, Histology and Developmental Biology
[Budapest, Hungary]

The aim of our study was to examine tonic and phasic effects exerted by somatosensory cortical areas S_I and S_{II} separately, on the transmission through the ventrobasal complex of the thalamus (VB). The changes of the amplitude and recovery cycle of the response of thalamo-cortical fibres projecting to S_I area following stimulation of medial lemniscus (LM) during different manipulations with the cortical areas S_I and S_{II} were used as indicators of the magnitude and duration of corticofugal influences on transmission through the VB complex.

Experiments were carried out on 39 cats anaesthetized with nembutal, immobilized with flaxedil. Stimulating concentric electrodes were placed in the LM and similar recording electrodes in the fibres of thalamic radiation projecting to area S_I . Pairs of rectangular pulses (0.1 ms) were delivered to the stimulating electrodes. Intervals between the conditioning and teststimuli varied from 3 ms to 500 ms. Cortical areas were activated by epileptic focus induced by local application of penicillin.

When penicillin was applied to the surface of both areas the response of thalamo-cortical fibres to stimulation of LM decreased by 70%. Coagulation of area S_I effected a renewed increase while coagulation of area S_{II} alone had no effect upon the response amplitude.

The penicillin induced seizure activity in area S_I and S_{II} alters the recovery cycle as well. The characteristic inhibition of the test response at the 30 msec interval between the stimuli disappears and the whole curve shifts to a higher level. After coagulation of areas S_I and S_{II} the recovery cycle becomes similar to the original one with the only difference of a slight shift upwards. A phasic facilitatory effect on the test response exerted by corticofugal fibres from area S_{II} is achieved by coagulating area S_I separately following seizure activity of both areas. Initial parts of recovery cycles can be approximated by exponential functions the bases of which are of nearly the same value. Recovery cycles in various phases of the experiments characterize the behaviour of VB neuron populations consisting of different number of elements. A correlation exists between the value of the function at $x = 3$ msec interval and the number of VB relay cells participating in the response to conditioning stimuli.

A HORMONRECEPTOROK DEFORMÁLHATÓSÁGA A POSTNATALIS PERIÓDUSBAN. EGYSZERI GONADOTROPIN KEZELÉS HATÁSA A PAJZSMIRIGY REAKCIÓKÉSZSÉGÉRE

U. NAGY ZSUZSANNA és CSABA GYÖRGY

Semmelweis Orvostudományi Egyetem Biológiai Intézete,
Budapest

Beérkezett: 1976. szeptember 20-án

Kulcsszavak: hormonreceptorok, deformáció, TSH, gonadotropin

Bevezetés

Korábbi kísérleteinkben a hormonreceptorok filogenezisét vizsgálva megállapítottuk, hogy az egysejtűek [1, 4, 5, 8, 9] és gerinctelenek [2, 6, 8] sejtjei is képesek válaszolni a magasabbrendűekre jellemző hormonokra, tehát a sejtek membránmintázata a receptor funkciót el képes látni. Receptorra azonban csak akkor válik, ha a filogenezisben a hormon valóban megjelenik. Emlősökben, ahol a hormon — az anya révén — korán jelen van, viszont valószínűleg a sejtmembránnak kell a fejlődés folyamán receptorszerűen átalakulnia a megfelelő target sejtben [3, 11, 12]. Feltételezve, hogy a receptoroknak ontogenezise van és kritikus időpontként az újszülöttkort választva, újszülött patkányoknak gonadotrop, illetve thyreotrop hormont (TSH) adtunk és mértük a tiroxin szintet felnőtt korban adott TSH hatására [10]. Az LH- és a TSH α -alegysége ugyanis kémiaiilag azonos [13, 14], feltételezhető volt tehát, hogy az LH a még képlékeny receptorral kapcsolatba tud lépni, de mivel β -alegysége nem azonos a TSH-éval, deformálja a receptort. A kísérletek eredményei szerint ez valószínűleg így is történt: a gonadotropinnal újszülöttkorban kezelt patkányok tiroxin szintje 70%-kal maradt el a kontrolloké mögött, a felnőttkori TSH kezelés alkalmával. Az újszülöttkori TSH kezelés — bár kisebb mértékben — ugyancsak csökkentette a felnőttkori TSH kezelés hatását. Mindezek ismeretében jelen kísérleteinkben arra kívántunk választ kapni, hogy a kritikus időpont az újszülöttkorra korlátozódik-e, vagy későbbi időpontra is kiterjed.

Anyag és módszer

15—17 napos vegyes nemű Wistar CB patkányokat TSH-val (Ambinon-Organon-Oss; 2 IE), illetve gonadotrop hormonnal (Gestil-Organon-Oss; 200 IE) kezeltünk egyetlen alkalommal, mélyen a nyak bőre alá adott sc. injekció formájában. A kontroll állatok fiziológias konyhasó oldatot kaptak. Egy kísérleti csoport 12, a két kontrollcsoport összesen 24 állatból állt. 2 hónapos korban a 2 kísérleti és az egyik kontroll csoport 3 IE TSH-t kapott, míg a másik kontrollcsoport fiziológias konyhasót. 10 perccel a kezelés után éternarkózisban vért vettünk, és a T_3 szintet indirekt módszerrel, Amersham (Radiochemical Centre, Anglia) Thyopac 3 kittel határoztuk meg.

1. táblázat
T₃ értékek hormon-kezelt patkányokon

Csoport	Kezelés		Állatok száma	Thyopac 3 érték	S. d.	Szignifikancia az 1. csoporthoz viszonyítva	Szignifikancia a 2. csoporthoz viszonyítva
	15–17 nap	felelőtt					
1.	NaCl	NaCl	12	93,67	5,70		
2.	NaCl	TSH	12	114,92	11,27	p < 0,01	
3.	TSH	TSH	12	113,35	10,22	p < 0,01	
4.	LH	TSH	12	94,22	5,12	nem szign.	p < 0,01

Eredmények és diszkusszió

Az eredményeket az 1. táblázat mutatja. A fiziológias konyhasós kontroll és az újszülöttkori gonadotropinnal kezelt állatok értékei azonosak, míg a TSH-val újszülött- és felnőttkorban egyaránt kezelt állatok értékei az előzőektől erősen szignifikánsan eltérnek, de egymás között gyakorlatilag azonosak. Ez arra utal, hogy 1. a nagy dózisú LH kezelés nemcsak az újszülöttkorban, hanem mintegy kéthetes korban is deformálni képes a receptorokat, melyek a TSH-ra felnőttkorban nem reagálnak; 2. a TSH kezelés csak az újszülöttkorban befolyásolja negatív irányban a receptorokat, kéthetes korban már nem.

Összefoglalás

15–17 napos patkányoknak adott egyszeri gonadotropin kezelés szignifikánsan befolyásolta a pajzsmirigy TSH-ra való érzékenységét felnőttkorban. Ugyancsak 15–17 napos korban adott TSH a felnőttkori válaszra nem volt hatással.

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**, 123–134.
3. CSABA, G. (1975) Néhány gondolat a hormonreceptorok filo- és ontogeneziséről. *Biológia*, **23**, 37–44.
4. CSABA, G., LANTOS, T. (1975) Effect of insulin on the glucose uptake of Protozoa. *Experientia*, **31**, 1097–1098.
5. CSABA, G., LANTOS, T. (1975) Specificity of hormones receptors in *Tetrahymena*. Experiments with serotonin and histamine antagonists. *Cytobiologie*, **11**, 44–49.
6. 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.
7. CSABA, G., KAPA, E., CSERHALMI, M. (1975) Hormone receptor studies on frog macrophage cells by means of histamine, serotonin and indole acetic acid. *Endokrinologie*, **65**, 219–223.
8. CSABA, G., NAGY, S. U., LANTOS, T. (1976) Are biogenic amines acting on *Tetrahymena* through a cyclic AMP mechanism? *Acta biol. med. germ.*, **35**, 269–271.
9. CSABA, G., LANTOS, T. (1975) Effect of amino acid and polypeptide hormones on the phagocytosis of *Tetrahymena pyriformis*. *Acta Protozool.*, **13**, 409–413.

10. CSABA, G., NAGY, S. U. (1976) Plasticity of hormone receptors and possibility of their deformation in neonatal age. *Experientia*, **32**, 651.
11. CUATRECASAS, P. (1974) Membrane receptors. *Ann. Rev. Biochem.*, **43**, 169—214.
12. FROWEIN, J., PETERSEN, K.-G. (1976) Rezeptoren für steroid Hormone. *D. med. Wschr.*, **101**, 589—593.
13. LIEBLICH, J. M., WEINTRAUB, B. D., ROSEN, S. W., CHOU, J. M., ROBINSON, J. C. (1976) He-La cells secrete alfa subunit of glycoprotein tropic hormones. *Nature*, **260**, 530—532.
14. WARD, D. N. (1974) Correlation of hormonal structure with hormonal function in mammalian tissues. In: BURDETTE, W. J. (ed.) *Invertebrate endocrinology and hormonal heterophyly*. Springer, Berlin.

THE DEFORMABILITY OF HORMONE RECEPTORS IN THE POSTNATAL PERIOD.
EFFECTS OF A SINGLE GONADOTROPIN TREATMENT ON THE REACTIVITY OF
THE THYROID GLAND

S. U. Nagy and G. Csaba

Semmelweis University of Medicine, Institute of Biology, Budapest, Hungary

A single gonadotropin treatment given to 15—17 days-old rats significantly influenced the sensitivity to TSH of the thyroid at adult age. TSH treatment of 15—17 days-old rats was without effect upon the adult response.

KLOROPLASZTISZ MUTÁCIÓK STRUKTURÁLIS ÉS FUNKCIONÁLIS VIZSGÁLATA CHLAMYDOMONAS REINHARDII-BAN. I. KLOROPLASZTISZ FINOMSZERKEZET, PIGMENT-TARTALOM ÉS FOTOSZINTETIKUS AKTIVITÁS

GYURJÁN ISTVÁN*, KERESZTES ÁRON, N. RAKOVÁN JÚLIA és SCHRÓTH ÁGNES

*ELTE Genetikai Tanszék, ELTE Növénysszervezettani Tanszék, Budapest

Beérkezett: 1976. május 25-én

Kulcsszavak: mutáció, kloroplasztisz, fotoszintézis

Bevezetés

A kloroplasztisz-genetikai kutatások széles körben alkalmazott modell-objektuma a *Chlamydomonas reinhardtii* egysejtű zöldalga. E kitüntetett szerepe több sajátosságával kapcsolatos. Az algasejt egy nagy, csésze alakú kloroplasztist tartalmaz, mely közelítőleg a sejt kétharmadát tölti ki [23, 11]. A kloroplasztisz szubmikroszkópos szerkezete nagymértékben hasonlít a legfejlettebb eukarióta növények kloroplasztiszára. Pl. egyes mutánsok plasztisz struktúrája hasonló vagy megegyező a magasabb rendű növények plasztiszfejlődésének egyes stádiumaival [16]. Jellemző továbbá, hogy a viszonylag egyszerű szexuális ciklusban, a zigótaképzés során, a sejtmagok fúzióját hamarosan követi a kloroplasztiszok fúziója is [4]. A zigótából létrejött négy zoospóra között a nukleáris gének megoszlása 2 : 2, míg a citoplazmás géneké 4 : 0.

A nukleáris és organelláris gének haploid zoospórák közötti megoszlásában jelentkező különbség (mendelező és nem-mendelező gének) lehetőséget ad a kloroplasztisz mutációk pontos lokalizációjára, a nukleáris és organelláris eredetű plasztiszmutációk közötti biokémiai különbségek feltárására. Megvalósítható az organelláris DNS génjeinek feltérképezése [27].

Nagyszámú munka bizonyítja, hogy a működőképes kloroplasztisz kialakulásában és regulált működésében alapvetően két genetikai rendszer, a mag- és kloroplasztisz-DNS játssza a főszerepet. Ezek tanulmányozásának egyik módja a mutánsanalízis.

Nagy számban ismeretesek olyan mutánsok, melyeknél a mutáció a kloroplasztisz szerkezetét, egyes komponenseinek szintézisét és természetesen funkcióját érinti. Ezek nagyrészt Mendel szabályai szerint öröklődnek, tehát sejtmag DNS-ben lokalizált mutációk. Nukleáris gének irányítják a kloroplasztisz pigmentek [13], az elektrontranszportlánc komponenseinek [8, 10, 21] és más strukturális sajátosságok, pl. a fotoszintetikus membránproteinek [3, 15] szintézisét.

Kevesebbet tudunk a ritkábban előforduló extrakromoszomális génmutációkról. Ezek többsége anyai öröklésmentet mutat. Plasztiszaiakra jellemző a nukleáris mutánsoknál is megfigyelhető vezikuláris szerkezet és az alacsony pigmenttartalom. Gránumok csak ritkán és akkor is rendellenes módon alakulnak ki [5, 33].

Többségükben nem-mendelező öröklődést mutatnak a kloroplasztisz-riboszóma rendellenes, antibiotikumokkal szemben rezisztens mutánsok [26, 27, 28, 30]. A rezisztenciát specifikus plasztisz-riboszómaprotein hiánya, illetve megváltozása okozza azzal, hogy az antibiotikum nem tud a riboszómához kapcsolódni. Ezekre a mutánsokra fotoszintézis defektus jellemző, a normálisnál jóval kevesebb RuDP-karboxilázt tartalmaznak. Ezenkívül riboszómális RNS rendellenesség is előfordulhat.

A fentiekből látható, hogy egyes plasztisz rendellenességek (pl. a fotoszintetikus aktivitás csökkenése vagy hiánya) többféle okra vezethetők vissza. A két genetikai rendszer együttműködése, az elsődleges és másodlagos hatások keveredése bonyolítja, megnehezíti a probléma genetikai szintű megértését, a felelős gének felderítését. Csak a plasztiszmutációk széles körű (biokémiai, morfológiai, genetikai) vizsgálata vihet közelebb a kérdés tisztázásához.

Ebben a dolgozatban különböző kloroplasztisz-rendellenes *Chlamydomonas* mutánsok plasztisz szerkezetét, klorofilltartalmát és fotoszintetikus aktivitását vetjük össze.

Anyag és módszer

A kísérletekben használt normális és mutáns alगतörzsek ismertetése

Kísérleteinkhez a *Chlamydomonas reinhardtii* egysejtű zöldalga normális és indukált mutáns törzseit használtuk fel. Ezeket a Leningrádi Állami Egyetem Genetikai Tanszékéről kaptuk.

Fenotípus jellegzetességek alapján a törzsek három csoportba oszthatók (I. táblázat).

1. táblázat

Vad és kloroplasztisz mutáns Chlamydomonas törzsek fenotípusos sajátosságai

Csoport	Szimbólum	Fenotípus		Fény- érzékeny- ség
		sötétben	fényen	
I.	494/vad	zöld	zöld	—
	420	zöld	zöld	—
II.	494/27	sárga	zöld	—
	494/28	sárga	zöld	—
	494/76	sárgás-zöld	világos-zöld	—
III.	494/30	világos-zöld	világos-zöld	+
	505	sárgás-zöld	sárgás-zöld	+

A Chlamydomonas törzsek tenyésztése

A tenyésztéshez a kísérleti szükségletek szerint különböző összetételű táptalajokat használtunk. Mindegyik táptalaj-féleség alapját az ún. L₂ minimál táptalaj képezi [20].

Összetétele:

1. Beijerinck oldat	100 ml/l
2. Foszfát puffer	100 ml/l
3. Na-acetát	2 g/l
4. Mikroelem oldat	1 ml/l
5. Agar	2%

Beijerinck oldat összetétele:

NH_4NO_3	3,0 g/l
K_2HPO_4	0,2 g/l
$\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$	0,2 g/l
$\text{CaCl}_2 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$	0,1 g/l

Foszfát puffer összetétele:

K_2HPO_4	7,17 g/l
KH_2PO_4	3,63 g/l

Mikroelem oldat összetétele:

ZnSO_4	22,00 g/100 ml
H_3BO_4	11,40 g/200 ml
$\text{MnCl}_4 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$	5,06 g/ 50 ml
$\text{FeSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$	4,99 g/ 50 ml
$\text{CoCl}_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$	1,61 g/ 50 ml
$\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$	1,57 g/ 50 ml
$\text{NH}_4\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$	1,10 g/ 50 ml
$\text{NaMoO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$	1,97 g/ 50 ml
$\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$	1,54 g/ 50 ml
EDTA	50,00 g/1250 ml

A mikroelem oldat minden összetevőjét külön-külön desztillált vízben feloldjuk és az EDTA kivételével összeöntjük azokat. Ezt követően adjuk hozzá az EDTA-t.

Két perces forralás után 70 °C-ig hűtjük és az oldat pH-ját 6,5—6,8 értékre állítjuk be 20%-os KOH-dal. Egy heti állás után a keletkezett üledéket szűréssel eltávolítjuk.

L_2 dúsított közeg: L_2 minimál táptalajhoz peptont és kazein-hidrolizátumot adunk 0,5% mennyiségben. Ez a táptalaj használható fel a törzsek fenntartására, szaporítására heterotróf körülmények között.

A biokémiai vizsgálatokhoz agar nélküli L_2 minimál folyékony tápközeget használtunk. Levegőztetéssel 25 °C-on szinkron tenyésztési körülmények között (12 óra fény, 12 óra sötét) 10^5 — 10^6 db sejt/ml nyerhető 7—8 nap alatt.

Klorofilltartalom meghatározása

Szinkronizált *Chlamydomonas* sejtszuszpenzióhoz (1 — $5 \cdot 10^7$ /ml) acetone—éter 1 : 1 arányú elegyét adjuk. Rövid állás után az elegyből az acetont vízzel kimossuk; a pigmentek az éteres fázisba mennek át. Az éteres pigment-oldat klorofilltartalmát két hullámhossz módszerrel határoztuk meg:

UNICAM SP-500 típusú spektrofotométeren 644 és 663 nm-nél mért denzitásiértékekből a klorofillok koncentrációját FRENCH [7] módszerével számítottuk ki:

$$k1-a = 11,44 D_{663} - 0,96 D_{644} \text{ nmól/ml} \cdot \text{cm}$$

$$k1-b = 18,01 D_{644} - 2,90 D_{663}$$

Az éteres kivonatok spektrumát SPECORD regisztráló spektrofotométeren vettük fel.

Elektronmikroszkópos vizsgálatok

Elektronmikroszkóposan vizsgáltuk a szinkron tenyészetből vett normális (494-es), valamint a 494/27, 494/28, 494/30 és 505-ös mutánsokat. A 494/27 és 494/28-as jelű mutánsokból sötétben nevelt sejteket is vizsgáltunk. Ezek a kiválasztott törzsek mindhárom mutáns csoportot reprezentálják (lásd 1. táblázat).

Kétféle fixálási módot alkalmaztunk:

a) Fixálás 1%-os KMnO_4 oldatban (oldószer: 0,1 M veronál-acetát puffer, pH 7,4), szobahőmérsékleten 2 óra hosszat;

b) Fixálás 2%-os glutáraldehid (Ga) oldatban (oldószer: 0,07 M K—Na-foszfát puffer, pH 7,0) 2 óra hosszat; mosás ugyanebben a pufferben, háromszori cserével, 2 óra hosszat. Végül utófixálás következett ugyanilyen pufferben oldott 1%-os OsO_4 -dal 1,5 óra hosszat. Az egész műveletet $+4^\circ\text{C}$ -on végeztük.

A KMnO_4 -os fixálás illetve az OsO_4 -os utófixálás után mosás következett a megfelelő pufferben, majd víztelenítés etanol-sorozatban és propilén-oxidban. Beágyazás Durcupan ACM-ben (Fluka), metszés Porter—Blum MT-1 ultramikrotommal történt. A metszeteket uranilacetáttal és ólomeitráttal kontrasztosítottuk, majd KEM-1, illetve Tesla BS-500 típusú elektronmikroszkópban vizsgáltuk.

Fotoszintetikus aktivitás mérése

Szinkronizált, mixotrofikusan növekedő sejt kultúrákat Levine-2 acetátmentes tápoldatba vittük át (10^7 — 10^8 sejt/ml). Mértük a sötétben és fényen (~ 2000 lux) beépült $\text{H}^{14}\text{CO}_3^-$ mennyiségét. 10 — 10 ml sejtuszpenzióhoz $0,1$ ml $1 \mu\text{C/ml}$ specifikus aktivitású $\text{H}^{14}\text{CO}_3^-$ -t adtunk és 1 órán át sötétben, illetve fényen inkubáltuk. Az inkubáció befejeztével a $\text{H}^{14}\text{CO}_3^-$ -t a sejtek felületéről többszöri vizes mosással távolítottuk el. A ^{14}C tartalmat Nuclear Chicago 725 típusú folyadékszintillációs spektrométerrel mértük.

A mérés közege:

5,0 ml toluolos szcintillációs oldat,

5,0 ml metilcelloszol (äthylen-glycolmonomethyläther)

0,2 ml vizes sejtuszpenzió

Szcintillációs oldat összetétele:

1000 ml vízmentes toluol

5,0 g PPO (2,5-diphenyloxazol)

0,5 g POPOP (4-methyl-5-phenyloxazol)

A mérés hatásfoka $\sim 90\%$ volt.

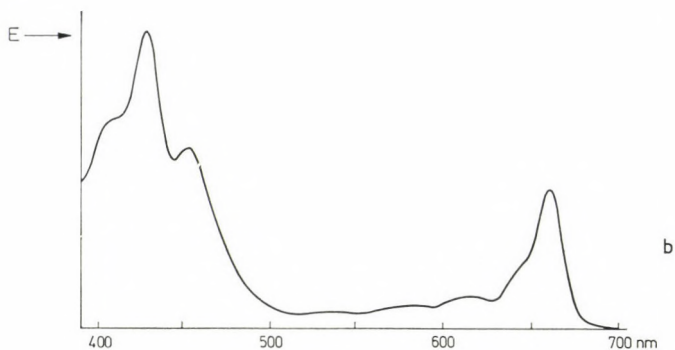
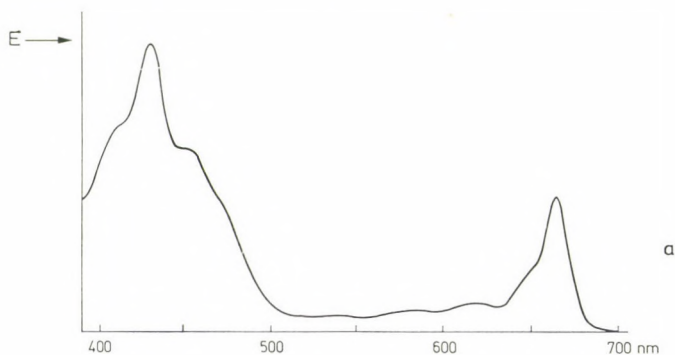
Kísérleti eredmények

Klorofilltartalom kvantitatív meghatározása és a pigmentek spektrális elemzése

Szinkronizált körülmények között tenyésztett normális és kloroplasztiszmutáns sejtek k1-a + k1-b tartalmát a 2. táblázat mutatja be.

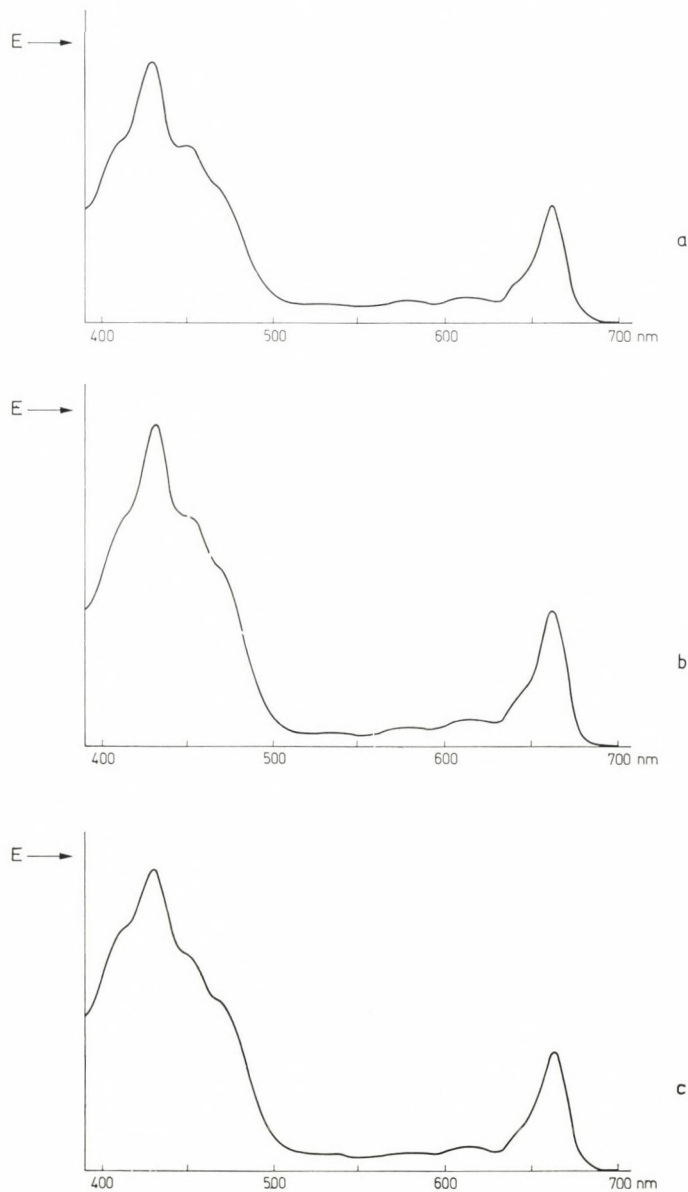
2. táblázat
Normális és különböző plasztiszmutáns sejtek k1-a + k1-b tartalma
(nmól/10⁷ sejt)

Törzs	$\frac{\text{nmól (k1-a + k1-b)}}{10^7 \text{ sejt}}$	k1-a/k1-b	%
494	21,4	2,72	100,0
420	16,9	2,25	79,0
494/27	10,4	2,49	48,6
494/28	7,4	2,65	34,6
494/76	3,5	2,70	16,7
494/30	2,9	6,20	13,5
505	1,4	1,46	6,5

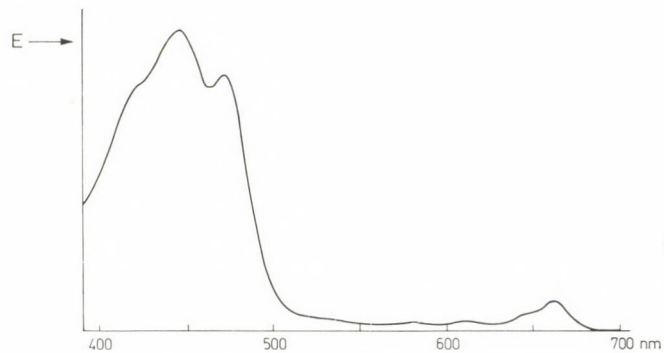
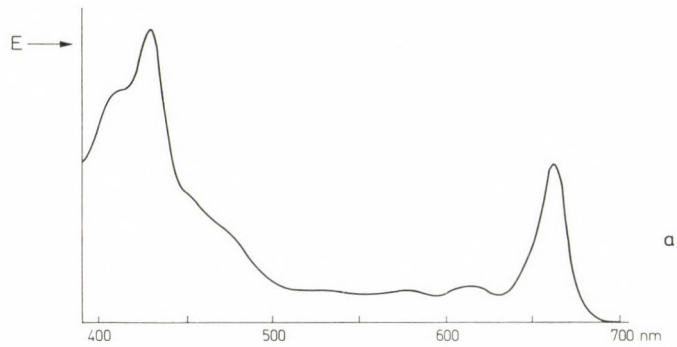


1. ábra

A vad típushoz (494-es) kisebb-nagyobb mértékben hasonló klorofill a/b aránnyal rendelkező törzsek a 420-as, valamint a fényre zöldülő (494/27, 494/28 és 494/76) mutánsokat foglalják magukba. Ezekben a különböző mértékű klorofilltartalom csökkenés a k1-a-t és k1-b-t egyformán érinti. Jellemükben a pigmentek spektrumgörbéi sem térnek el a normálistól (1a., b. ábra; 2a., b., c. ábra). A mutánsok másik csoportjánál (494/30, 505) a klorofilltartalom a normálisénak csupán 10%-a. A klorofill a/b arány is szélsőségesen eltér a normá-



2. ábra



3. ábra

1., 2. és 3. ábra. *Chlamydomonas reinhardtii* vad és mutáns törzseiből izolált pigmentek spektruma éterben. 1a. 494-es (vad) törzs; b. 420-as törzs. 2a. 494/27-es törzs; b. 494/28-as törzs; c. 494/76-os törzs. 3a. 494/30-as törzs; b. 505-ös törzs

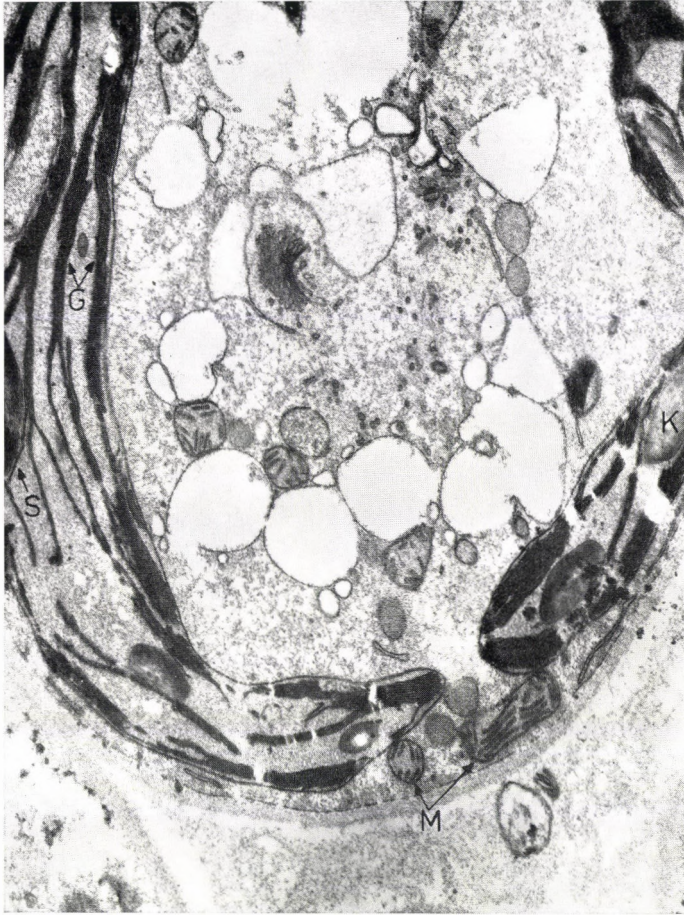
Figures 1—3. Spectra of pigments (in ether solution) isolated from wild-type and mutant strains of *Chlamydomonas reinhardtii*. 1a. strain 494 (wild-type); b. strain 420. 2a. strain 494/27; b. strain 494/28; c. strain 494/76. 3a. strain 494/30; b. strain 505

listól. A 494/30 jelű mutánsnál az a/b arány 6, az 505-ös mutánsnál 1,5. Pigmentjeik éteres kivonatából készített spektrumgörbék rendellenes karotinoid összetételre utalnak (3a., b. ábra).

Kloroplasztisz finomszerkezetének vizsgálata

494-es (vad) típus

Kiválasztott felvételeink (1., 2., 3. kép) elsősorban a kloroplasztisz szerkezetét demonstrálják. Ultravékony metszeteinkben a sejtek egy részében látszólag több kloroplasztisz található (1. kép). Ennek az a magyarázata, hogy a sejtfalhoz simuló csésze alakú kloroplasztisz részben lebonyozott és ezek a lebonyok bizonyos metszési síkokban elkülönülten látszanak. A plasztisz belső membránjai nagyrészt összekapcsolódtak (2—10 membrán együtt), másutt kapcsolódás nélkül futnak le („unstacked” és „unstacked” régiók). Az egymás mellett futó membránkötegek mindkét féle régióban egyesülhetnek, illetve



1. kép. Normális *Chlamydomonas reinhardtii* sejt részlete. Nagyítás: 14 400 ×. A képeken (1–15) általánosan előforduló jelölések: G = gránum; M = mitochondrium; PR = plasztisz-riboszóma; K = keményítő; P = pyrenoid; S = sztróma-lamella (illetve azokban a plasztiszokban, ahol gránum nincsen, kapcsolódás nélküli lamella). Megjegyzés: az 1. és 2., valamint a 11–15. kép KMnO_4 -tal, a többi glutáraldehyd + OsO_4 -dal fixált anyagból készült.

Plate 1. Detail of *Chlamydomonas reinhardtii* normal cell. Magnification: 14 400 ×. General abbreviations occurring on plates 1–15: G = grana; M = mitochondrion; PR = plastid ribosome; K = starch; P = pyrenoid; S = stroma lamellae (in plastids lacking grana: single lamellae). Plates 1, 2 and 11–15 show material fixed with KMnO_4 ; the other plates show material fixed with glutaraldehyde and postfixed with OsO_4 .

szétválhatnak. Ezek a régiók hasonlóak a magasabb rendű kloroplasztiszok gránumaihoz, illetve sztróma-lamelláihoz. További hasonlóság, hogy a fotoszintézis produktumai keményítő formájában raktározódnak (2. és 3. kép). A keményítőszemek eltérő denzitása a 2. és 3. képen az eltérő fixálási körülményekkel magyarázható. A keményítőszemek részben a pirenoidot veszik körül, részben elszórtan találhatóak a sztrómában. $\text{Ga} + \text{OsO}_4$ fixálás után megfigyelhetők a plasztisz-riboszómák, melyek szemmel láthatóan kisebbek



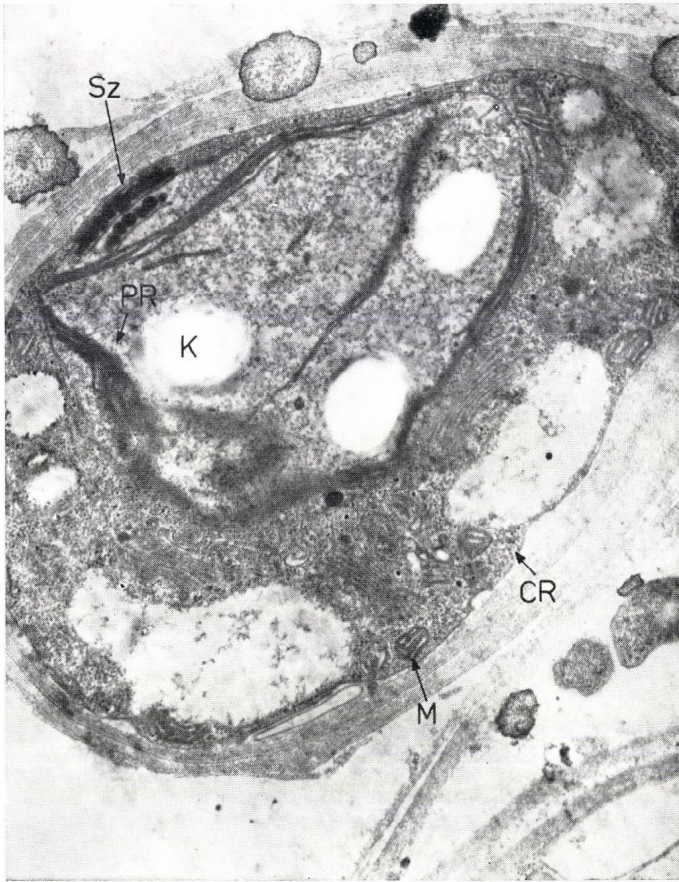
2. kép. Normális plasztisz részlete. A nyíl egy csövecskére mutat a pyrenoidban, amely kapcsolatban áll a pyrenoidon kívüli membránokkal. Nagyítás: 21 000 ×

Plate 2. Detail of normal plastid. The arrow points to a tubule (within the pyrenoid) extending to membranes outside of the pyrenoid. Magnification: 21 000 ×

a citoplazma-riboszómáknál. Jellemző képződmény a plasztiszban a szemfolt, ami a plasztisz határoló hárttyája alatt két sorban rendezett denz vezikulákból áll.

494/27-es mutáns

Sötétben nevelve a plasztisz membránrendszere gyengén fejlett. Főleg kapcsolódás nélküli lamellákból áll, melyek helyenként többé-kevésbé párhuzamosan futnak le (4. kép). Rövid szakaszokon 2—2 lamella összetapadása is megfigyelhető, ez olykor a lamellák végének visszahajlásából ered (5. kép). A plasztiszban sok keményítőszem található.



3. kép. Normális sejt. CR = citoplazmatikus riboszóma; Sz = szemfolt. Nagyítás: 16 800 ×
 Plate 3. Normal cell. CR = cytoplasmic ribosome; Sz = eyespot. Magnification: 16 800 ×

Fényen nevelve a normálissal megegyező plasztiszszerkezet alakul ki, jól fejlett gránumokkal, a sztrómában riboszómákkal (6. kép). A számos keményítőszem egy része szorosan körülveszi a pirenoidot, a többi a sztrómában elszórtan található.

494/28-a s m u t á n s

Sötétben nevelve a plasztiszban belső membránok gyakorlatilag nem alakulnak ki. A plasztisztérfogat nagy részét keményítő szemek töltik ki, köztük a sztrómában felismerhetők a riboszómák (7. és 8. kép). Fényen nevelve a plasztiszban dús membránrendszer képződik, ami párhuzamosan és kapcsolódás nélkül lefutó lamellákból áll (9. és 10. kép). A plasztiszban viszonylag kevés a keményítő.

494/30-as mutáns

A plastiszban néhány nagy kiterjedésű és kapcsolódás nélküli lamella alakul ki. Ezek vagy közvetlenül a plasztiszhártya alatt, azzal párhuzamosan



4—5. kép. Részletek a sötétben nevelt 494/27-es mutáns plasztiszjaiból. Az 5. képen a nyíl egy lamellavég visszahajlására mutat. Nagyítás 71 000 \times , illetve 51 500 \times

Plates 4—5. Details of plastids from dark-cultured mutant 494/27. The arrow in plate 5 indicates the backward-bent end of a lamella. Magnifications: 71 000 \times and 51 500 \times , respectively



6. kép. Fényen nevelt 494/27-es mutáns plasztisz részlete. Nagyítás: 48 000 ×
 Plate 6. Detail of plastid from light-cultured mutant 494/27. Magnification: 48 000 ×

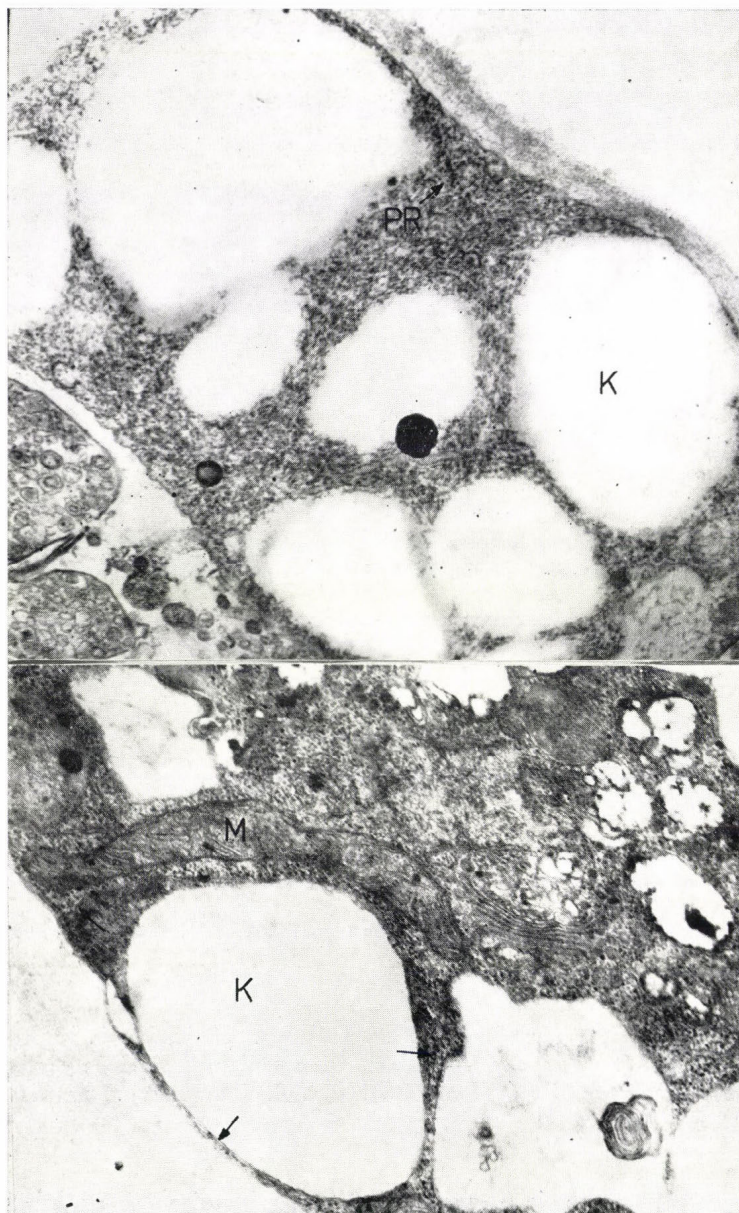
húzódnak, vagy a keményítőszemeket veszik körül (11., 12. és 13. kép). Egyes keményítőszemeket a lamella — feltehetően széleinek fúziója révén — kontinuusan körülzár; az ilyen keményítőszemek jellegzetes sugaras szerkezetűek (13. kép).

505-ös mutáns

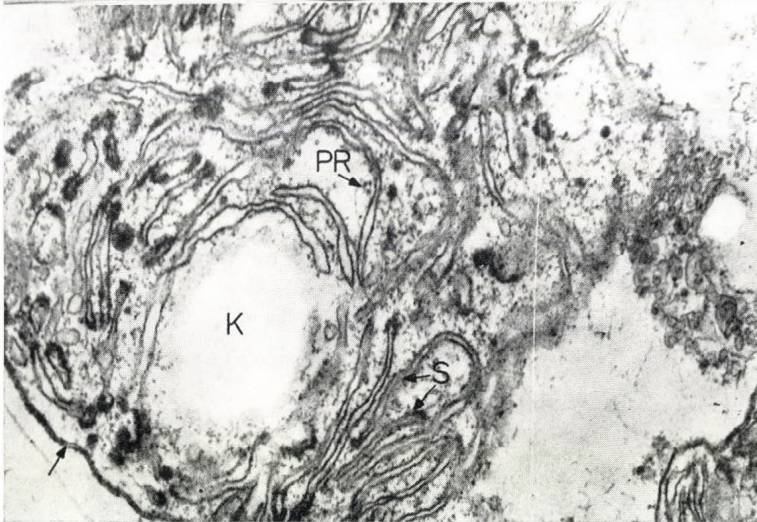
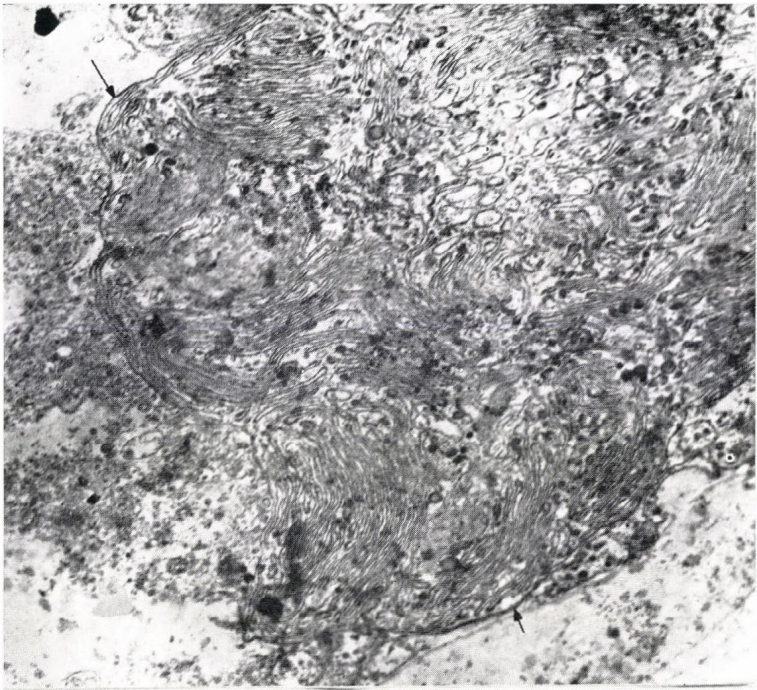
A plasztiszban kevés a membrán és sok a keményítő (14. kép). A kevés magános lamella többnyire a plasztiszhártya alatt, azzal párhuzamosan fut (15. kép), bár esetenként ezen a helyen vezikulumok sorát találjuk (14. kép). A plasztisz keményítő-mentes helyein a vezikulumok elszórtan találhatóak a sztrómában.

$H^{14}CO_3^-$ fotoszintetikus beépülése

A $H^{14}CO_3^-$ beépülésére vonatkozó adatokat a 3. táblázatban foglaljuk össze.

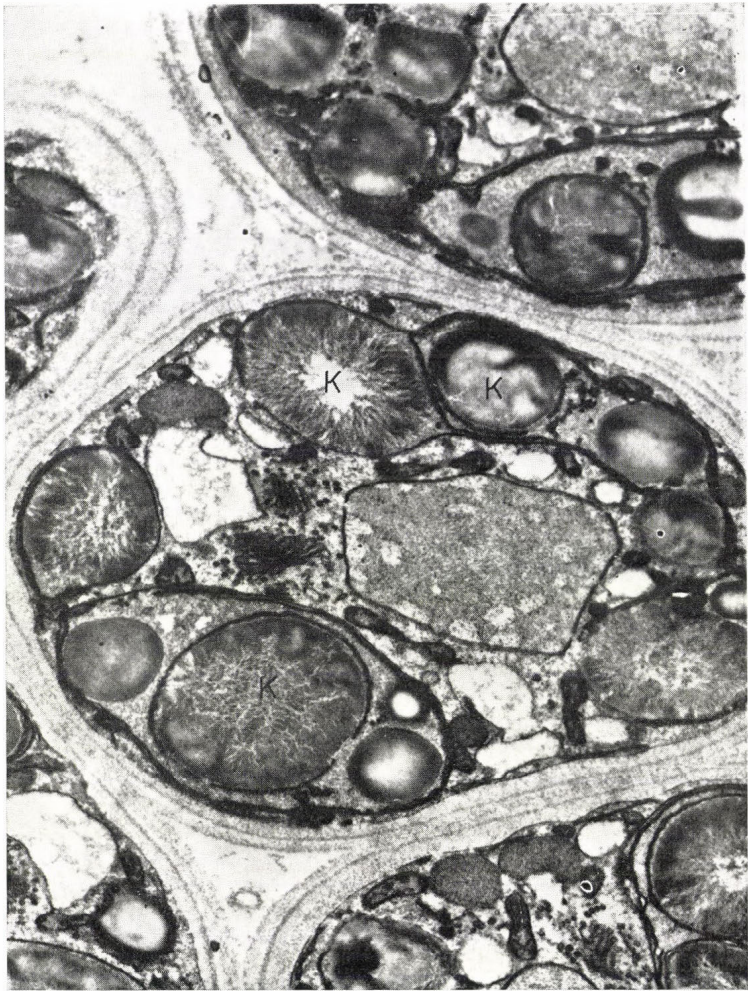


7—8. kép. Részletek a sötétben nevelt 494/28-as mutáns plasztiszaiból. A 8. képen a nyilak a plasztisz-hártyára mutatnak. Nagyítás: 29 500, illetve 23 000 ×
 Plates 7—8. Details of plastids from dark-cultured mutant 494/28. Arrows in plate 8 indicate the plastid envelope. Magnifications: 29 500 × and 23 000 ×, respectively



9–10. kép. Fényen nevelt 494/28-as mutáns plasztisz részletei. A nyilak a plasztisz-hártyára mutatnak. Nagyítás: 11 700, illetve 26 400 ×

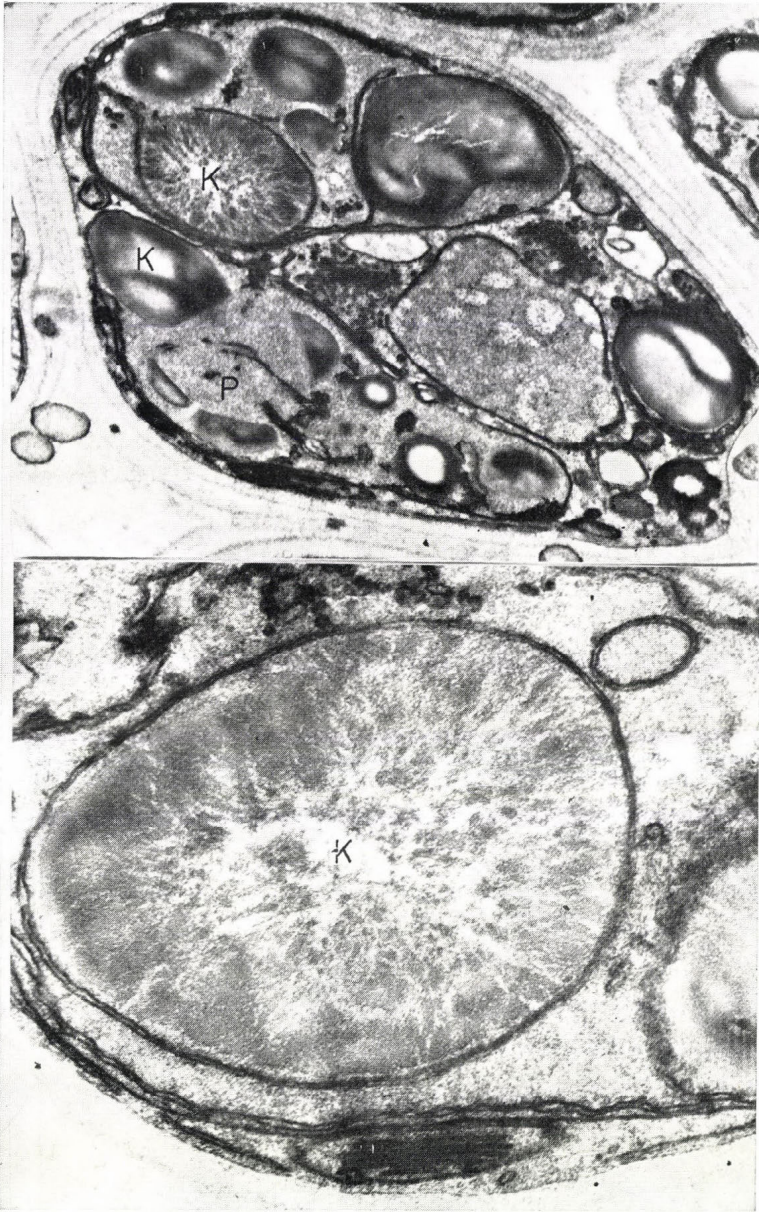
Plates 9–10. Details of plastids from light-cultured mutant 494/28. Arrows indicate the plastid envelope. Magnifications: 11 700 and 26 400 ×, respectively



11. kép. 494/30-as mutáns sejtek. Nagyítás 12 000 ×
 Plate 11. Cells of mutant 494/30. Magnification: 12 000 ×

3. táblázat
 $H^{14}CO_3$ beépülés mértéke normális és különböző kloroplasztiszmutáns sejtekbe
 2000 lux megvilágítási intenzitás mellett

Törzs	$\mu g HCO_3^-/10^7$ sejt · óra	%
494	16,00	100,0
420	5,10	31,0
494/27	7,30	45,6
494/28	5,40	33,5
494/76	1,90	11,7
494/30	0,06	0,4
505	0,05	0,3

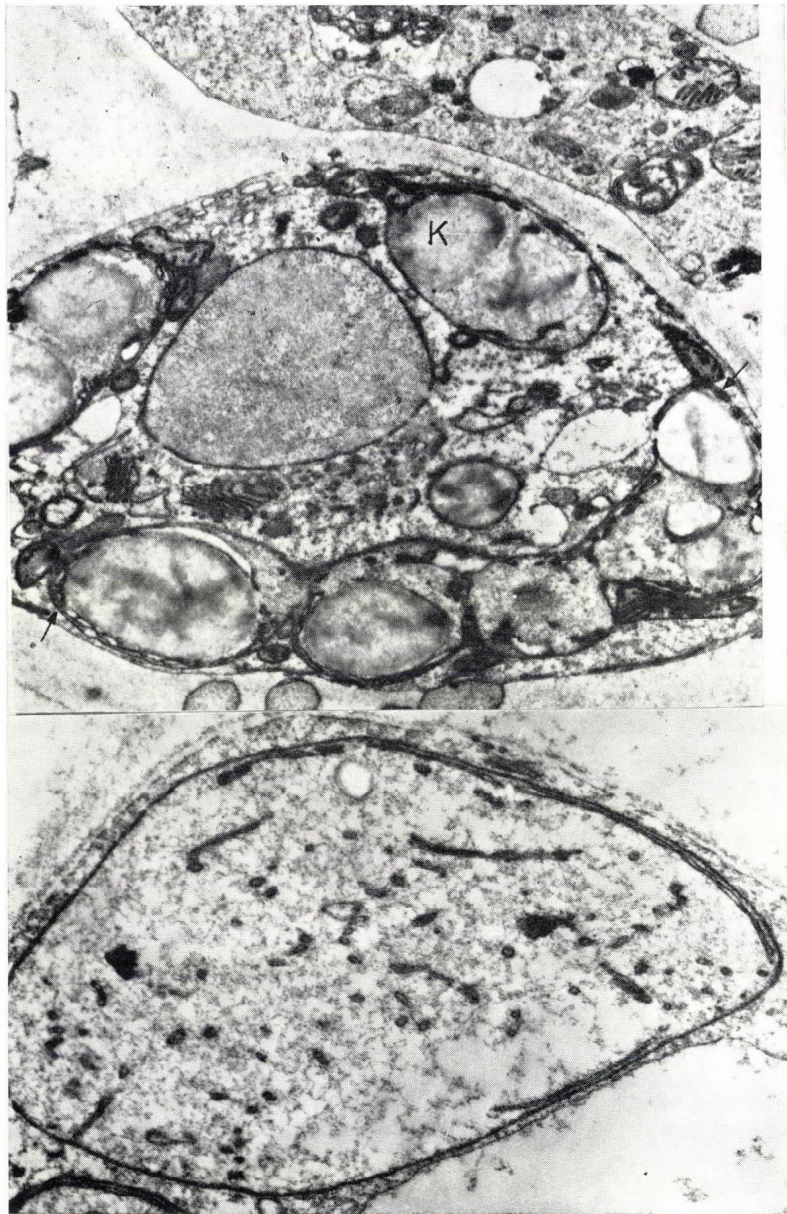


12. kép. 494/30-as mutáns sejt. Nagyítás 13 100 ×

Plate 12. Cell of mutant 494/30. Magnification: 13 100 ×

13. kép. Részlet a 494/30-as mutáns plasztiszából. Nagyítás: 39 000 ×

Plate 13. Detail of plastid from mutant 494/30. Magnification: 39 000 ×



14. kép. 505-ös mutáns sejtek. A nyilak a plasztiszhártyára mutatnak. Nagyítás: 13 400 ×
 Plate 14. Cells of mutant 505. Arrows indicate the plastid envelope. Magnification: 13 400 ×

15. kép. Az 505-ös mutáns plasztisza. Nagyítás: 23 300 ×
 Plate 15. Plastid of mutant 505. Magnification: 23 300 ×

A fényre zöldülő 494/27-es és 494/28-as mutánsok a klorofilltartalmukkal arányos H^{14}CO_3 beépítésre képesek. A szélsőségesen fényérzékeny 494/30-as és 505-ös mutánsok fotoszintetikus aktivitása alig mérhető.

A 420-as mutáns, amely klorofilltartalmát tekintve a normáliséhoz közel áll, a HCO_3^- fotoszintetikus beépítésére viszonylag kismértékben képes, ezért csak acetátot tartalmazó tápközegben fejlődik megfelelően.

Megvitatás

Míg összklorofilltartalom alapján csupán fokozatsor állítható fel a mutánsok között, addig a kl-a/kl-b arányokat tekintve azok két csoportba sorolhatók. Az egyikben a kl-a/kl-b arány közel normális, a másikban attól teljesen elütő. Ez utóbbi csoportba tartozik a 494/30-as és 505-ös törzs. A pigmentek éteres kivonatából készített abszorpciós spektrumok kék tartományában ez a két mutáns lényegesen eltér a vad típustól, amiből a karotinoidösszetétel rendelkezésére lehet következtetni. Feltehetően a fényérzékenyséjük is ezzel kapcsolatos. Fotoszintetikus baktériumokban, algákban és magasabb rendű növényekben is kimutatták [1, 6, 14], hogy a karotinoid deficiens kloroplasztiszok károsodásának egyik legfeltűnőbb és általánosan jelentkező mozanata a klorofilok fotooxidatív bomlása. Célszerű tehát a szóban forgó mutánsoknál is elvégezni a karotinoidok kvalitatív és kvantitatív elemzését.

A 494/27-es és a 494/28-as mutáns a fénytől függő klorofillszintézis alapján a yellow (y) csoportba sorolható. Ezen belül a 494/27-es finomszerkezeti sajátosságai nagymértékű hasonlóságot mutatnak az irodalomból ismert y-1 mutánséhoz [23, 24]. Ilyen szerkezeti egyezések: sötétben a gyér lamelláltság a lamellavégek helyenkénti visszahajlásával és tapadásával; fényen a normális felépítésű membránrendszer kialakulása. Az y-1-ben ismeretes a zöldülési folyamat menete is. Ez a gránumképződés módjában lényegesen eltér a magasabbrendűekre jellemző sémától. Itt ugyanis a gránumok a már meglévő lamellák összetapadásából vagy visszahajlásából keletkeznek egylépcsős folyamatban. Eközben nem változik lényegesen a membránokban a fotoszintetikus elektrontranszportlánc komponenseinek aktivitása sem. Ez a fajta gránumképződés tehát nem foglalja magába új szerkezeti elemek (lamellák) képződését és beépülését a struktúrába, ami egy többlépcsős folyamatot jelentene.

A 494/28-as mutáns plasztiszában fényben — a belső membránok állapotát tekintve — lényegében olyan szerkezet alakul ki, mint a sötétben tartott 494/27-es mutánsban (vö. 4. és 10. kép). Ha a két mutáns szinkron tenyészetéből vett mintákat hasonlítjuk össze, akkor azt találjuk, hogy a 494/27-es javára meglévő szerkezeti különbség (a gránumok megléte) nem tükröződik a fotoszintetikus aktivitásban. Vagyis a gránum nélküli mutáns csaknem annyi CO_2 -t épít be fotoszintetikusán, mint a gránumos. Ez a tulajdonsága emlékeztet az ac-5 mutánsra [9], amely a membránszerkezet és a fotoszintetikus aktivitás összefüggése körüli viták egyik forrása lett. A korábbi elképzelés szerint ugyanis az 1. fotorendszer aktivitásáért a teljes membránrendszerben megtalálható kis (110 Å) membrán-partikulumok felelősek, a 2. fotorendszer aktivitását pedig a nagy (170 Å) partikulumok jelzik, melyek csak a gránumok fagyasztva tört membránfelszínein figyelhetők meg [2, 28]. Az ac-5 mutánsban viszont nincs membránkapcsolódás és nincs nagy partikulum

a membránokban, mégis mindkét fotorendszer működik [9]. Idézett szerzők ebből arra következtettek, hogy a nagy partikulumok nem a fotoszintetikus aktivitásban, hanem a membránkapcsolódásban játszanak szerepet. Más vizsgálatok azonban ezt nem támasztják alá [12, 25, 31].

A membránkapcsolódás kérdését újabban a membránfehérjék elektroforetikus vizsgálatával közelítik meg. Így NAM-HAI CHUA és OJAKIAN [22] *Chlamydomonas*-ban egy 24 000 dalton molekulásúlyú polipeptidet, SMITH és SJOLUND [32] *Streptanthus*-ban egy 33 000 dalton molekulásúlyú polipeptidet jelölt meg a kapcsolódásban szerepet játszó tényezőként. Feltehető tehát, hogy a 494/28-as mutánsban nem szintetizálódik a 24 000 daltonos polipeptid.

A pigmenttartalom és a plasztisz-szerkezet fejlettsége egymástól függetlennek látszik a 494/27-es mutánsnál, amely szinkronizált körülmények között normális plasztisz-szerkezettel rendelkezik, jóllehet klorofilltartalma csak fele a vad típusénak. Más szerzők még ennél is nagyobb pigmentszint-csökkenés esetén sem találtak szerkezeti rendellenességet [8]. Szélsőségesen klorofilldeficiens mutánsainkban azonban a membránok mennyisége már ugyancsak nagymértékben redukált, tehát arányos a klorofillszinttel. OHAD és mtsai [23, 24] hipotézise szerint klorofillhiány esetén a plasztisz-riboszómán képződő polipeptid nem válik le a riboszómáról, így a fehérjeszintézis leáll.

A vizsgált másik két mutáns (494/30-as és 505-ös) esetében az igen alacsony pigmenttartalom és a fotoszintetikus aktivitás hiánya, valamint az erősen redukált belső plasztisz-struktúra nagymértékű változásokra utal a sejt genetikai rendszerében.

A 494/30-as mutáns azon tulajdonsága, hogy sötétben is képes klorofillt szintetizálni, megegyezik a normálissal. Az abnormálisan magas kl-a/kl-b arány szempontjából viszont a 494/30-as törzset a c-8 mutánsához [17] tekintjük hasonlóknak. LADIGIN szerint a c-8 törzsben a mutáció a klorofill-a-nak klorofill-b-vé való átalakulását gátolja. Előzetes méréseink szerint a 30-as törzsben alacsony a karotinoidszint. Ezzel is magyarázható a kékeszöld színe és az erős megvilágításnál tapasztalható fényérzékenysége.

Az 505-ös mutáns, mivel rendkívül alacsony a klorofilltartalma, sötétben és fényen is sárga színű. Ezeket a típusú mutáns törzseket LADIGIN [18] klorofill nélküli (chl⁻) törzseknek nevezi. Szerinte ebben az esetben a klorofillszintézis már valamely kezdeti fokon gátolt. Ebbe a csoportba tartozik a zs-4 törzs [15] is, melynek struktúrája hasonló az általunk vizsgált 505-ös mutáns-hoz. Legfontosabb közös jellemzőjük, hogy a kis nyomokban talált klorofill nem elegendő a tilakoidok kialakulásához.

494/30-as és 505-ös mutánsok klorofilltartalmának és a plasztisz-szerkezetének ismeretében nem meglepő, hogy azok fotoszintézisre képtelenek. Kizárólag acetátos közegben életképesek.

A 420-as mutáns közel normális klorofilltartalommal és pigmentösszetétellel rendelkezik, fotoszintézisre azonban csak kismértékben képes. LEVINE [19] több ehhez hasonló mutánt írt le, melyekben a mutáció az elektrontranszportlánc egyes komponenseit érinti. Így pl. előfordulnak a citokrom 559, citokrom 553, P₇₀₀, 2. fotorendszer, valamint a foszforibulokináz enzim hiányos mutánsok. Ezekre is jellemző a normális pigmenttartalom mellett az alacsony fotoszintetikus aktivitás. Folyamatban levő vizsgálataink szerint a 420-as mutánsban a P₇₀₀ deficiens.

Az ismertetett és megvitatott biokémiai és strukturális sajátságokból bizonyos következtetések már levonhatók a rendellenesség lokalizációjára

vonatkozóan. Így pl. a rendellenes karotinoid-összetételű, szélsőségesen fényérzékeny és klorofillhiányos 494/30-as és 505-ös mutánsok feltehetően nukleáris eredetűek. Ugyanez mondható el a normális fenotípusú, de fotoszintézis-defektusos 420-as mutánsról is, melyben a genetikai blokk az elektrontranszportláncban található. A 494/27-es és 494/28-as fényre zöldülő mutánsok csupán kvantitatív eltéréseket mutatnak a vad típushoz képest, rendellenességeik regulációs jellegűek. Valószínű, hogy ezek a mutációk plasztom eredetűek.

Összefoglalás

Finomszerkezeti és biokémiai vizsgálatokat végeztünk a szinkronizált tenyésztési körülmények között nevelt *Chlamydomonas reinhardtii* vad és kloroplasztisz-mutáns törzseivel.

Fenotípus alapján a vizsgált törzsek három csoportba sorolhatók: 1. sötétben és fényen egyaránt zöldek (494-es és 420-as); 2. sötétben sárgák, fényre zöldülők (494/27-es, 494/28-as, 494/76-os); 3. nagymértékben klorofilldeficiens és fényérzékeny törzsek (494/30-as és 505-ös).

Összklorofilltartalom vonatkozásában kimutattuk, hogy a fényre zöldülő sejtek klorofilltartalma 17—50%-a a vad (494-es) típusénak, a klorofill a/b arány normális. A fényérzékeny törzsekben (494/30-as és 505-ös típus) a klorofillmennyiség közelítőleg 10% és a klorofill a/b arány a normálistól szélsőségesen eltérő.

A $H^{14}CO_3$ fotoszintetikus beépülésével kapcsolatban kimutattuk, hogy a nagymértékben pigmentdeficiens 494/30-as és 505-ös jelű mutánsok csak jelentéktelen mértékben képesek fotoszintézisre. A fényre zöldülő mutánsok (494/27-es, 494/28-as és 494/76-os) klorofilltartalmuknak megfelelő fotoszintézisre képesek.

A normális fenotípusú, közel normális pigmenttartalommal rendelkező 420-as mutáns fotoszintetikus aktivitása alacsony (30%).

A kloroplasztisz finomszerkezetére vonatkozó vizsgálatok az alábbiakban összegezhetők: a 494/27-es mutáns sötétben nevelt tenyészetében kapcsolódás nélküli, többé-kevésbé párhuzamos lefutású lamellák fordulnak elő a kloroplasztiszban. Fényen normális plasztisz-szerkezet alakul ki.

A 494/28-as mutánsban, a sötétben nevelt sejtek plasztiszában belső membránok gyakorlatilag nem alakulnak ki. A plasztisztérfogat nagyrészt keményítőszemek töltik ki. Fényen nevelve, a plasztiszban dús membránrendszer képződik, de ezek a lamellák nem kapcsolódnak össze.

A 494/30-as és 505-ös mutánsok plasztiszában számos vezikulum, valamint néhány nagykiterjedésű és kapcsolódás nélküli lamella alakul ki. Ezek az esetek többségében közvetlenül a plasztiszhártya alatt, azzal párhuzamosan húzódnak.

IRODALOM

1. ABDULLAEV, H. A., USMANOV, P. D., TAGEEVA, SZ. V., NASZYROV, YU. SZ. (1971) Sztruktúra i funkciya kloroplasztov pigmentnuh mutantov Pisum sativum i Arabidopsis thaliana L. (Heynh.). In: *Geneticszkie aszpektü fotoszintetiza.* (ed.: NASZYROV, YU. SZ.) Izd. A. N. Tadzsiik SzSzR. Dushanbe, pp. 77—105.
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

- characterisation of membrane fractions obtained from digitonin treated spinach chloroplasts. *J. Cell. Biol.*, **43**, 16–31.
3. BOURQUE, A. P., WILDMAN, S. G. (1973) Evidence that nuclear genes code for several chloroplast ribosomal proteins. *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, **50**, 532–537.
 4. CAVALIER-SMITH, T. (1970) Electron microscopic evidence for chloroplast fusion in zygotes of *Chlamydomonas reinhardtii*. *Nature*, **228**, 333.
 5. DOLZMANN, P. (1968) Photosynthese-Reaktionen einiger Plastom-Mutanten von *Oenothera*. III. Strukturelle Aspekte. *Z. Pflanzenphysiol.*, **58**, 300–309.
 6. FALUDI, B., FALUDI-DÁNIEL, Á., KELEMEN, G. (1960) Increased photosensitivity of leaf pigments and its relation to the respiratory system in albino mutants of corn. *Physiol. Plant.*, **13**, 227–236.
 7. FRENCH, C. S. (1960) Chlorophylls in vivo and in vitro. In: *Encyclopedia of Plant Physiology*. (ed.: RUHLAND, W.) Springer Verlag, Heidelberg, **5/1**, pp. 259–271.
 8. GOODENOUGH, U. W., LEVINE, R. P. (1969) Chloroplast ultrastructure in mutant strains of *Chlamydomonas reinhardtii*. Lacking component of the photosynthetic apparatus. *Plant Physiol.*, **44**, 990–1000.
 9. GOODENOUGH, U. W., STAEHELIN, L. A. (1971) Structural differentiation of stacked and unstacked chloroplast membranes. *J. Cell Biol.*, **48**, 594–619.
 10. HEBER, U., GOTTSCHALK, W. (1963) Die Bestimmung des genetisch fixierten Stoffwechselblockes einer Photosynthese-Mutante von *Vicia faba*. *Z. Naturforsch.*, **18b**, 36–44.
 11. JOHNSON, U. G., PORTER, K. R. (1968) Fine structure of cell division in *Chlamydomonas reinhardtii*. Basal bodies and microtubules. *J. Cell Biol.*, **38**, 403.
 12. KERESZTES, Á., DAVEY, M. R., LÁNG, F. (1976) Freeze-etched membrane faces and photosynthetic activity in normal and mutant *Tradescantia* chloroplasts. *Protoplasma*, **90**, 1–14.
 13. KIRK, I. T. O. (1972) The genetic control of plastid formation. *Sub Cell. Biochem.*, **1**, 333–361.
 14. KRINSKY, N. I. (1968) The protective function of carotenoid pigments. In: *Photophysiology*. (ed.: GIESE, A. C.) Academic Press, New York, **3**, 123–195.
 15. KUNG, S. D., THORNER, J. P., WILDMAN, S. G. (1972) Nuclear DNA codes for the photosystem II. chlorophyll-protein of chloroplast membranes. *FEBS Letters*, **24**, 185–188.
 16. LADIGIN, V. G., SZEMENOVA, G. A., TAGEEVA, SZ. V. (1972) Ultrasztruktúra plasztid belovo i zseltovo mutanta *Chlamydomonas reinhardtii*. *Citologija*, **14**, 1455–1460.
 17. LADIGIN, V. G., SZEMENOVA, G. A., TAGEEVA, SZ. V. (1973) Razvityije lamellarnoj sztrukturü plasztid u pigmentnüih mutantov *Chlamydomonas reinhardtii*. *Citologija*, **15**, 810.
 18. LADIGIN, V. G., SZEMENOVA, G. A., TAGEEVA, SZ. V. (1975) Neprerüvnosztü hloroplaszta *Chlamydomonas reinhardtii* v tecenie zsziznyennovo cikla. II. Fermirovanie hloroplaszta zigtöü i plasztid zoospor v processze polovova razmozsennjo. *Citologija*, **17**, 115–121.
 19. LEVINE, R. P. (1969) The analysis of photosynthesis using mutant strains of algae and higher plants. *Ann. Rev. Plant Physiol.*, **20**, 523.
 20. LEVINE, R. P., EBERSOLD, W. T. (1958) Gene recombination in *Chlamydomonas reinhardtii*. *Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol.*, **23**, 101.
 21. LEVINE, R. P., GORMAN, D. S. (1966) Photosynthetic electrontransport chain of *Chlamydomonas reinhardtii*. III. Light-induced absorbance changes in chloroplast fragments of the wild type and mutant strains. *Plant Physiol.*, **41**, 1293–1300.
 22. NAM-HAI CHUA, OJAKIAN, G. K. (1974) Effects of proteolysis on the stacking of thylakoid membranes from *Chlamydomonas reinhardtii*. *J. Cell. Biol.*, **63**, 62.
 23. OHAD, I., SIEKEVITZ, P., PALADE, G. E. (1967a) Biogenesis of chloroplast membranes. I. Plastid dedifferentiation in a dark-grown algae mutant (*Chlamydomonas reinhardtii*). *J. Cell. Biol.*, **35**, 521–552.
 24. OHAD, I., SIEKEVITZ, P., PALADE, G. E. (1967b) Biogenesis of chloroplast membranes. II. Plastid differentiation during greening of a dark-grown algae mutant (*Chlamydomonas reinhardtii*). *J. Cell. Biol.*, **35**, 553.
 25. PENDLAND, J. C., ALDRICH, H. C. (1973) Ultrastructural organization of chloroplast thylakoids of the green alga *Oocystis marssonii*. *J. Cell. Biol.*, **57**, 306–314.
 26. SAGER, R. (1972) Cytoplasmic genes in *Chlamydomonas*. In: *Cytoplasmic genes and organelles*. Acad. Press New York. 49–106.
 27. SAGER, R., RAMANIS, Z. (1970) A genetic map of non-Mendelian genes in *Chlamydomonas*. *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.*, **65**, 593.
 28. SANE, P. V., GOODCHILD, D. J., PARK, R. B. (1970) Characterisation of chloroplast photosystems 1 and 2 separated by a non-detergent method. *Biochim. Biophys. Acta*, **216**, 162–178.
 29. SCHLANGER, G., SAGER, R. (1974) Localisation of five antibiotic resistances at the subunit

level in chloroplast ribosomes of *Chlamydomonas*. *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.*, **71**, 1715—1719.

30. SCHLANGER, G., SAGER, R., RAMANIS, Z. (1972) Mutation of a cytoplasmic gene in *Chlamydomonas* alters chloroplast ribosome function. *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.*, **69**, 3551—3555.
31. 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.
32. SMITH, D. D., SJOLUND, D. R. (1975) Photosynthetic activity and membrane polypeptide composition of supergranal chloroplasts from plant tissue cultures containing a virus-like particle. *Plant Physiol.*, **55**, 520.
33. WETTSTEIN, D. VON, ERIKSSON, G. (1965) The genetics of chloroplasts. In: *Genetics Today* (ed.: GEERTS, E.) **3**, 591—612. Pergamon Press, Oxford.

STRUCTURAL AND FUNCTIONAL INVESTIGATIONS OF CHLOROPLAST MUTANTS IN *CHLAMYDOMONAS REINHARDII*. I. FINE STRUCTURE OF CHLOROPLASTS, PIGMENT CONTENT AND PHOTOSYNTHETIC ACTIVITY

I. Gyurján*, Á. Keresztes, J. N. Rakován, Á. Schróth

Eötvös Loránd University Department of Genetics* and Department of Plant Anatomy
Budapest, Hungary

Structural and biochemical investigations were carried out on wild-type and chloroplast-mutant strains of *Chlamydomonas reinhardtii*, grown in synchronized culture.

According to the phenotype, the investigated strains can be sorted into 3 groups:

1. strains green in both light and dark (494 and 420);
2. strains yellow in the dark and becoming green in light (494/27, 494/28 and 494/76);
3. light-sensitive strains strongly deficient in chlorophyll (494/30 and 505).

It has been demonstrated that the total chlorophyll content of cells becoming green in the light amounts to 17—50% of that of wild-type (494), and that the chlorophyll a/b ratio is normal. In the light-sensitive strains (494/30 and 505) the chlorophyll content is about 10% of wild-type and the chlorophyll a/b ratio differs considerably from the normal.

When the photosynthetic incorporation of $H^{14}CO_3^-$ was studied, the strongly pigment-deficient mutants (494/30 and 505) turned out to be hardly able to perform photosynthesis. Those strains that become green in the light (494/27, 494/28, and 494/76) show photosynthetic activity corresponding to their chlorophyll content.

The photosynthetic activity of mutant 420 is low (30%) in spite of its normal phenotype and nearly normal pigment content.

The investigations concerning fine structure can be summarized as follows: In the chloroplasts of the dark-grown mutant 494/27 separated lamellae of more or less parallel arrangement occur. In the light the normal plastid structure is formed.

In the plastids of the dark-grown mutant 494/28, practically no inner membranes are formed. Most of the plastid volume is filled by starch grains. When grown in the light, a dense system of membranes is formed, but its lamellae do not contact each other.

In the plastids of mutants 494/30 and 505, numerous vesicles and some separated, extended lamellae are formed, in most cases immediately under the plastid envelope and parallel to it.

KLOROPLASZTISZ MUTÁCIÓK STRUKTURÁLIS ÉS FUNKCIONÁLIS VIZSGÁLATA CHLAMYDOMONAS REINHARDII-BAN

II. ÖSSZNUKLEINSAV TARTALOM ÉS RIBOSZOMÁLIS RNS FRAKCIÓK

GYURJÁN ISTVÁN, KERESZTES ÁRON* és ERDŐS GÉZA

ELTE Genetikai Tanszék, ELTE Növény szerkezettani Tanszék*, Budapest

Beérkezett: 1976. május 25-én

Bevezetés

A *Chlamydomonas reinhardtii* egyetlen kloroplasztisza a sejt DNS tartalmának mintegy 15%-át tartalmazza [7]. A sejt összes riboszómáinak 50%-át a kloroplasztisz szabad és membránhoz kötött 70S riboszómái teszik ki [9].

A saját DNS és riboszóma létezése a kloroplasztiszban közvetlenül ahhoz a kérdésselvetéshez vezet, hogy milyen szerepük van ezeknek a kloroplasztiszok szerveződésében, az egyes komponensek képződésében. Pontosabban, milyen gének lokalizálódnak a kloroplasztisz DNS-ben és milyen genetikai funkciók figyelhetők meg transzkripció és transláció szinten.

A kloroplasztisz-génekről szerzett relatíve kevés ismerettel szemben, nagyszámú adattal rendelkezünk a kloroplasztisz strukturális és funkcionális sajátosságainak kialakításában résztvevő nukleáris génekről. LEVINE és GOODE-NOUGH [18] közölt adatai alapján a *Chlamydomonas reinhardtii* 16 kapcsolási csoportjában 16 — a fotoszintézis folyamatát érintő — génmutáció és 9 pigmentmutáció lokalizálható.

Egyes *Euglena* kísérletek arra utalnak, hogy a szintelen mutáns törzsek plasztiszáiban DNS nem mutatható ki [8]. E vizsgálatok alapján tehát a plasztisz (plasztom) mutáció oka a DNS hiánya. Ezt a megállapítást más kísérletek nem támasztják alá. Pl. a dohány *Status albomaculatus* mutánsában a fehér szektor plasztiszáiban DNS kimutatható [34]. Hasonló eredményt kapott SHUMWAY és WEIER [29] kukorica plasztom mutáns elektronmikroszkópos elemzésekor is. Valószínű tehát, hogy nem a plasztisz DNS hiánya, hanem mutációs megváltozása idézi elő a rendellenességet.

A plasztisz DNS mutációját ténylegesen kimutatni a Frakció I. protein szintézisének sikerült. Ez a 70S-es riboszómákon szintetizálódó szolubilis protein a kloroplasztiszokban feltűnően nagy mennyiségben fordul elő, sőt a levél összes szolubilis fehérjéinek közel 50%-át teszi ki [9]. Fő komponense a ribulóz-1,5-difoszfát-karboxiláz enzim [15].

SDS-el kezelve, a Frakció I. protein két alegységre bomlik: egy nagyobb, $5,5 \cdot 10^4$ molekulásúlyú és egy kisebb, $1,4 \cdot 10^4$ molekulásúlyú komponensre. CHAN és WILDMAN [6], valamint KAVASIMA és WILDMAN [16] dohányban kimutatta, hogy a nagy alegység mutációjának anyai öröklődést mutat, a kis alegység viszont Mendel szabályai szerint öröklődik. HASELKORN és mtsai [14] ugyanezt igazolták *Chlamydomonas*-ban is. Ez tehát azt jelenti, hogy a nagy

alegység a plasztisz DNS-ben kódolt, míg a kis alegység génjei a sejtmagban lokalizáltak.

Információs gátlókkal, így pl. rifampicinnel kimutatták, hogy a kloroplasztisz RNS funkcionális génjei a kloroplasztisz DNS-ben lokalizáltak [27, 28, 32]. Ezt támasztják alá a DNS-RNS hibridizációs vizsgálatok is [31].

Specifikusan a kloroplasztisz riboszómát gátló kloramfenikollal végzett vizsgálatokkal kimutatták, hogy a Calvin-ciklus szolubilis enzimeinek többsége citoplazma riboszómákon szintetizálódik [10]. Néhány tilakoid membránprotein, valamint egyes kloroplasztisz riboszómális proteinek képzésében a kloroplasztisz riboszómák vesznek részt [12].

Az irodalomban nagyszámú publikáció foglalkozik plasztiszriboszóma-rendellenes *Chlamydomonas* mutánsokkal. Ezeknek egyik típusát nukleáris determináltságú, fotoszintézisre képtelen ac-mutánsok alkotják [18]. Jellemző rájuk a plasztiszriboszómák számbeli csökkenése, a II. fotoszintetikus rendszer egyes komponenseinek hiánya, valamint a RuDP-karboxiláz enzim és a plasztisz rRNS tartalom redukciója.

A kloroplasztiszriboszóma-rendellenesség másik típusa az antibiotikumokkal szemben rezisztens mutánsok [25, 26, 27, 3, 4, 5, 21, 22]. Ezek szintén fotoszintézis rendellenesek, a normálisnál jóval kevesebb RuDP-karboxilázt tartalmaznak.

Előző munkánkban [13] új, indukált plasztisz-rendellenes *Chlamydomonas* mutánsok finomszerkezetét és fotoszintetikus aktivitását tanulmányoztuk. Most a nukleinsav-tartalomra vonatkozó vizsgálatainkról számolunk be.

Anyag és módszer

A kísérletekben használt normális és mutáns algtörzsek

Kísérleteinkhez a *Chlamydomonas reinhardtii* egysejtű zöldalga normális és mutáns törzseit használtuk fel, melyeket a Leningrádi Állami Egyetem Genetikai Tanszékéről kaptunk. Ezek: 494-es vad, 494/76, 494/28, 494/27-es jelzésű, fényre zöldülő mutánsok, a 420-as ac-igényes, valamint a 494/30-as és 505-ös fényérzékeny törzsek. Részletes ismertetésüket lásd GYURJÁN és mtsai [13] cikkben.

A vizsgálatokhoz steril körülmények között mixotrofosan nevelt 8 napos szinkron kultúrákat használtunk fel. Az ilyen korú tenyészetek denzitása 10^6 db sejt/ml volt.

DNS és RNS tartalom egymás melletti meghatározása

A DNS és RNS tartalom egymás melletti meghatározásához ANDERSEN [1] módszerét alkalmaztuk, amely SMILLIE és KROTKOV [30] eljárásán alapul. Az extrahálószer az alkalmazás sorrendjében:

1. metanol,
2. 0,2% hangyasavat tartalmazó metanol,
3. 5%-os HClO_4 ,
4. 96%-os etanol,
5. abszolút alkohol és éter 1 : 1 arányú keveréke,

6. éter,
7. 70%-os HClO_4 ,
8. 0,3 M KOH.

A centrifugálással leüleptített sejteket 10 ml metanolban vesszük fel és teflonpotterrel elroncsoljuk 0 °C-on. 10 percig tartó centrifugálás ($3000 \times g$) után a szupernatánst eldobjuk, majd a csapadékhoz 10 ml 0,2% hangyasavat tartalmazó metanolt adunk. A szuszpenziót ismét centrifugáljuk $3000 \times g$ -vel 10 percig. Az üledékhez 10 ml 5%-os HClO_4 -et adunk és ismét centrifugáljuk. A csapadék víztelenítését etanol, etanol—éter 1 : 1 arányú keverékével és éteres mosással végezzük, centrifugálások közbeiktatásával.

A szárított csapadékhoz 0,3 N KOH-ot adunk és 15—20 órán át inkubáljuk 37 °C-on. Az inkubálás után a szuszpenziót hűtjük 0 °C-ra és centrifugáljuk. A csapadékot eldobjuk. A felülúszóhoz hűtés és keverés közben 1 ml 70%-os HClO_4 -at adunk, majd ezt követően 4 ml 5%-os HClO_4 -at. Centrifugálás után kapott felülúszó az RNS, a csapadék tartalmazza a DNS-t. A DNS hidrolízisét 5%-os HClO_4 -el, 90 °C-on, 15 percig történő forralással végezzük. Hűtés és centrifugálás után kapott felülúszó a DNS.

Az RNS és DNS frakciókat spektrofotométeren, 260 nm-nél mért extinkcióikból az alábbi összefüggésekkel számoljuk ki:

$$\text{RNS} : D_{260}^{1\text{cm}} = 1,000 \text{ megfelel } 32,5 \mu\text{g RNS/ml-nek}$$

$$\text{DNS} : D_{260}^{1\text{cm}} = 1,000 \text{ megfelel } 35,0 \mu\text{g DNS/ml-nek}$$

Riboszomális RNS izolálása

A nukleinsavak izolálását LOENING és INGLE [20] módszerével végeztük. A sejteket 1% Na-laurilszulfátot tartalmazó 10 mM-os TRIS puffer (pH 7,4) és ezzel egyenlő mennyiségű bentonitot tartalmazó (12 mg/ml) fenol-metakrezol eleggyel potterben elhomogenizáltuk 0 °C-hőmérsékleten. A fenol-metakrezol elegy összetétele:

- 500,0 g kristályos fenol,
- 0,8 g 8-hidroxikinolin,
- 70,0 g desztillált metakrezol,
- 55,0 ml H_2O

A homogenátum $1000 \times g$ -vel történő centrifugálása után az alsó fenolos fázist eltávolítottuk, a felső fázishoz NaCl-t adtunk 0,5 M-os végkoncentrációban. A fehérjék ilyen módon történő kizósása után azonos térfogatban ismét fenol-metakrezol elegyet adtunk a pufferes oldathoz. Rövid állás után centrifugálás közbeiktatásával, az alsó fenolos fázist eltávolítottuk. A felső TRIS pufferes fázisból a nukleinsavakat abszolút alkohollal kicsaptuk. Ez utóbbi művelet 12 órán át, hidegen történik. A nukleinsav csapadékot centrifugálással üleptítjük, majd 0,5% Na-laurilszulfát tartalmú, 0,15 M-os Na-acetát oldatban feloldjuk. Az alkoholos kicsapást még kétszer megismételjük.

RNS frakcionálás poliakrilamid gélelektroforézissel

A gélelektroforézist LOENING [19] módszerével végeztük. A poliakrilamid gél 2,5% akrilamidot és 0,12% bisakrilamidot tartalmazott. A tartálypuffer összetétele: 0,4 M TRIS; 0,02 M Na-acetát; 2 mM EDTA pH 7,8. A gélekre 30 perces előfuttatás után 5% szaharózt tartalmazó kádpufferben feloldott nukleinsavat vittünk fel és szobahőmérsékleten 5 mA/gél áramerősség mellett 2 órán át elektroforetizáltuk.

A nukleinsavak festését KONINGS és BLOEMENDAL [17] eljárása szerint végeztük. A géleket az üvegsövekből való kiszedés után 0,2%-ban toluidinkék festéket tartalmazó 10%-os ecetsavoldatba helyeztük. A festés ideje 2—4 óra. A festékfelesleget 2%-os ecetsav mosással távolítottuk el.

RNS frakciók denzitometriás mérése

A toluidinkékkel megfestett géleket denzitometriásan értékeltük Chromscan MK-2 (Joyce) segítségével. Az egyes RNS frakciók relatív mennyiségét a görbék alatti területekből számítottuk.

³H-uracil beépülésének mérése

10 ml szinkron tenyésztett folyadék-kultúrához (kb. 10⁸ db sejt) 0,3 ml ³H-uracil-t (10 μ C/ml) adtunk, majd 1 órán át fényen (~2000 lux) inkubáltuk. Ezt követően a szuszpenziót centrifugáltuk (3000 \times g 10 percig), majd a sejtet hideg 5%-os HClO₄-el elhomogenizáltuk. Centrifugálás után a sejtterméket 96%-os etanollal, etanol—éter 1 : 1 arányú elegyével, végül éterrel mostuk. Az így kapott fehér csapadékot 10 ml desztillált vízben felfuszpendáltuk. A szuszpenzió 0,2 ml-ét szcintillációs koktélba vittük és az aktivitást Nuclear Chicago 725 típusú folyadékszcintillációs spektrométerrel mértük. A mérési határfok ~20%.

Szcintillációs koktél összetétele:

10 ml szcintillációs oldat

5 ml metilcelloszol (äthylen-glycol-monomethyläther)

Szcintillációs oldat összetétele:

1000 ml vízmentes toluol

5,0 g PPO (2,5-diphenyloxazol)

0,5 g POPOP (4-methyl-5-phenyloxazol)

Eredmények

Az 1. táblázat a normális és plasztizmutáns törzsek össznukleinsav tartalmát mutatja be.

A táblázat adataiból kitűnik, hogy 10⁷ db sejtire számított DNS tartalom minden törzsnél közel azonos értéket mutat. Sokkal nagyobb különbségek mutatkoznak azonban az RNS tartalomban. A fényre zöldülő mutánsokban (494/27-es, 494/28-as törzs) az RNS mennyisége csak fele a vad típusban (494-es törzs) mért értéknek, így az RNS/DNS arány itt a legkisebb.

1. táblázat

DNS és RNS tartalom alakulása

Törzs	$\mu\text{g}/10^7$ sejt		RNS/DNS	RNS%
	DNS	RNS		
494	6,10	59,1	9,70	100,0
420	5,60	45,0	8,05	76,0
494/27	5,58	29,8	5,39	50,0
494/28	5,98	32,1	5,32	54,2
494/76	5,95	47,0	7,80	79,5
494/30	6,35	45,8	7,30	77,5
505	6,03	43,6	7,08	73,6

Az RNS tartalomban mutatkozó deficiencia okát keresve tanulmányoztuk a riboszomális RNS-ek kvalitatív és kvantitatív alakulását, annál is inkább, mert ezek teszik ki a ribonukleinsavak legnagyobb részét.

Az 1., 2. és 3. ábra a vad és plasztiszmutáns *Chlamydomonas* sejtekből izolált rRNS poliakrilamid gélen szétválasztott és toluidinkékkel megfestett frakcióinak denzitogramjait mutatja be.

A citoplazma riboszomális RNS tartalma alapján a vizsgált törzsek két csoportba sorolhatók. Az egyikben a 25S rRNS és 18 S rRNS aránya a 25S komponens javára tolódik el, míg a másik csoportban ezek a frakciók közel egyforma mennyiségben fordulnak elő. Ez utóbbi csoportba tartoznak a nagymértékben klorofilldeficiens és fényérzékeny 494/30-as és 505-ös jelű mutánsok.

Plasztisz-riboszomális RNS (23S rRNS és 16S rRNS) minden típusban kimutatható és a 16S rRNS mennyisége általában meghaladja a 23S rRNS mennyiségét.

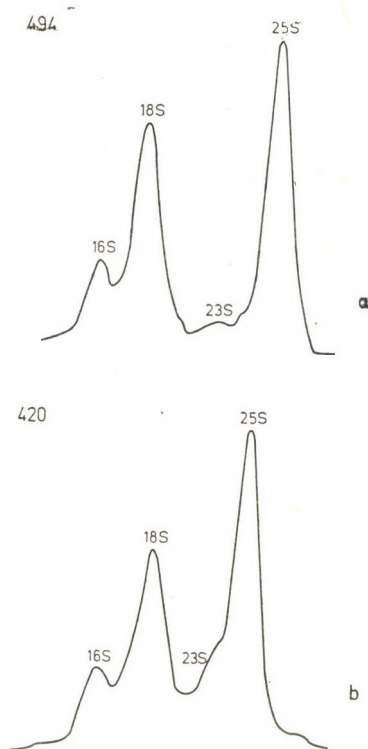
Az egyes rRNS-féleségek görbék alatti területből számított relatív mennyiségét a 2. táblázat tartalmazza.

2. táblázat

Citoplazma és kloroplasztisz eredetű rRNS frakciók relatív mennyisége
(az összes rRNS %-ban)

Törzs	plasztisz rRNS%		citoplazma rRNS%		16S/23S	25S/18S	kloroplasztisz rRNS%
	16S	23S	18S	25S			
494	13,1	6,1	34,0	47,0	2,1	1,38	19,2
420	9,8	11,0	35,9	42,6	0,9	1,20	20,8
494/27	10,5	7,1	36,0	46,0	1,5	1,28	17,6
494/28	13,4	4,8	35,7	46,2	2,8	1,30	18,2
494/76	11,6	6,8	34,6	47,1	1,7	1,36	18,4
494/30	21,1	4,3	38,6	36,0	4,9	0,95	25,4
505	11,1	10,5	41,3	37,3	1,1	0,90	21,6

Az adatokból kitűnik, hogy a kloroplasztisz riboszomális RNS %-os mennyisége a vizsgált törzsekben közel azonos, közelítőleg 20%. Ennél nagyobb mennyiségben fordul elő a 494/30-as mutánsban. Ez elsősorban abból adódik, hogy a legnagyobb mennyiségben előforduló 25S RNS szintje itt alacsonyabb. Ez utóbbit a 25S RNS/18S RNS arány is jól szemlélteti.



1. ábra

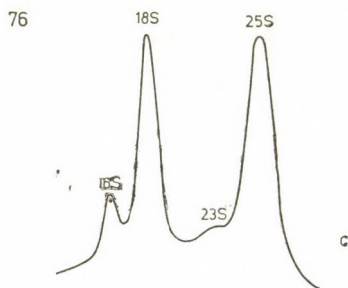
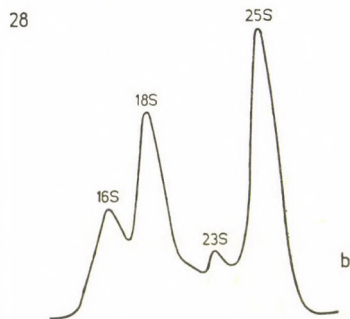
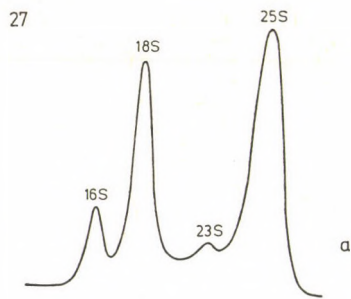
A 3. táblázat a ^3H -uracillal végzett vizsgálatokat mutatja be.

A táblázat adataiból látható, hogy a gyengén fotoszintetizáló, egyébként a normális törzshöz sokban hasonló 420-as mutáns ^3H -uracil beépülése normális. Kisebb mértékű, de a sejt összes RNS-tartalmához viszonyítva jelentősebb ^3H -uridin beépülés figyelhető meg a 494/27-es és 494/28-as, fényre zöldülő mutánsokban. Az erősen klorofilldeficiens mutánsokban a savstabilis frakció jelölődése 20—30% körüli.

3. táblázat

A ^3H -uracil beépülése a *Chlamydomonas* sejtek savstabilis frakciójába

Törzs	^3H -uracil nmól/10 ⁷ sejt · óra	Kontroll%
494	0,120	100,0
420	0,120	100,0
494/27	0,090	75,1
494/28	0,067	56,0
494/76	0,043	35,3
494/30	0,023	23,0
505	0,038	31,8

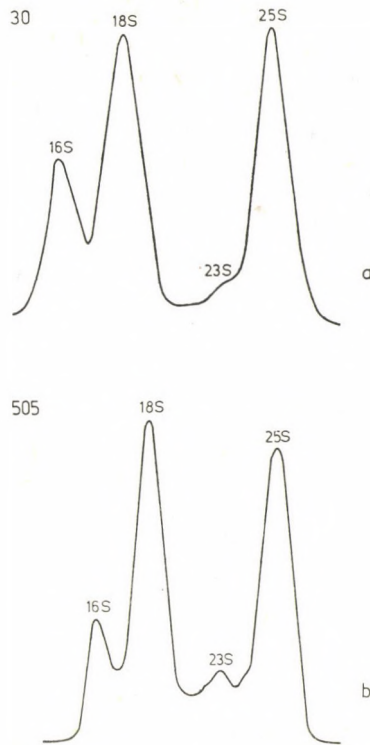


2. ábra

Megvitatás

Előző dolgozatunkból [13] kitűnik, hogy a vad és különböző plasztiszmutáns *Chlamydomonas* törzsek finomszerkezet, klorofilltartalom és pigmentösszetétel, valamint fotoszintetikus aktivitás alapján jól elkülöníthető csoportokba sorolhatók. Nukleinsavtartalomra, a nukleinsavak kvalitatív összetételére vonatkozó eredményeink ilyen mértékű differenciált csoportosításra nem adnak lehetőséget.

RNS deficiencia alapján a mutánsok két csoportba sorolhatók: kis-



3. ábra

1—3. ábra. Riboszomális RNS poliakrilamid gélelektroforézise. 1a. 494-es (vad) törzs; b. 420-as törzs. 2a. 494/27-es törzs; b. 494/28-as törzs; c. 494/76-os törzs. 3a. 494/30-as törzs; b. 505-ös törzs

Figures 1—3. Polyacrylamid gelelectrophoresis of ribosomal RNA. 1a. strain 494 (wild-type); b. strain 420. 2a. strain 494/27; b. strain 494/28; c. strain 494/76. 3a. strain 494/30; b. strain 505

(20—25%-os) és nagymértékű (50%-os) deficienciát mutató törzsek. Ez utóbbi csoportba tartoznak a yellow típusú mutánsok (494/27, 494/28). A sejtekben legnagyobb mennyiségben előforduló rRNS frakció poliakrilamid gélelektroforézissel történő szétválasztása és toluidinkékkel való festése alapján sem kvalitatív, sem kvantitatív különbségek nem mutathatók ki a vad típushoz viszonyítva. Az alacsonyabb RNS tartalom esetleg kevesebb sejtenkénti riboszómával lehet kapcsolatos.

Milyen jelentősége lehet ennek a mutáns fenotípus kialakításában?

Chlamydomonas yellow mutánsában specifikus gátlók alkalmazásával kimutatták [11, 33], hogy a plasztisz lamella-proteinek szintézise a citoplazma- és plasztisz-riboszómákon történik. A citoplazma-riboszómán keresztül történő lamella-proteinszintézis gátlás a pigmentszintézist is érinti. A plasztiszriboszóma bénítása inaktív membránok képződéséhez vezet [2, 11, 23]. Ennek megfelelően a 494/27-es és 494/28-as mutánsainkban a plasztiszlamellák redukált száma, ezzel együtt az alacsonyabb klorofilltartalom, valamint az ennek megfelelő fotoszintetikus aktivitás összefüggésbe hozható az alacsony RNS tartalommal.

Összefoglalás

Vad és különböző kloroplasztisz mutáns *Chlamydomonas* törzsek szinkron tenyészetekének nukleinsavtartalmát vizsgáltuk. A mérésekből kitűnik, hogy a 494/27-es és 494/28-as törzsek RNS tartalma csak fele a vad típusénak. A többi vizsgált mutánsban kb. 20%-os RNS deficiencia mutatkozik. A riboszomális RNS poliakrilamid gélelektroforézise arra utal, hogy ez a csökkenés valamennyi RNS frakciót érinti, de a mutáció a relatív plasztisz rRNS tartalmat lényegesen nem befolyásolja. A szélsőségesen fényérzékeny, pigment-defektusos mutánsokban a 25S rRNS tartalom a normálnál lényegesen alacsonyabb.

IRODALOM

1. ANDERSEN, K. S. (1971) Ribosome synthesis in greening primary leaves of bean seedlings (*Phaseolus vulgaris*). *Biochem. Physiol. Pflanzen*, **162**, 245–264.
2. BAR-NUN, S., OHAD, J. (1974) Cytoplasmic and chloroplastic origin of chloroplast membrane proteins associated with PS II and PS I active centers in *Chlamydomonas reinhardtii* Y-1. *Proc. Third Int. Congr. Photosynth.*, **3**, 1627–1638.
3. BOYNTON, J. E., GILLHAM, N. W., BURKHOLDER, B. (1970) Mutations altering chloroplast ribosome phenotype in *Chlamydomonas* II. A New Mendelian mutation. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, **67**, 1505–1592.
4. BOYNTON, J. E., GILLHAM, N. W., CHABOT, J. F. (1972) Chloroplast ribosome deficient mutants in the green alga *Chlamydomonas reinhardtii* and the question of chloroplast ribosome function. *J. Cell. Sci.*, **10**, 267–305.
5. BURTON, W. G. (1972) Dihydrospectinomycin binding to chloroplast ribosomes from antibiotic-sensitive and resistant strain of *Chlamydomonas reinhardtii*. *Biochim. Biophys. Acta*, **272**, 305–311.
6. CHAN, P. H., WILDMAN, S. G. (1972) Chloroplast DNS codes for the primary structure of the large subunit of fraction I protein. *Biochim. Biophys. Acta*, **277**, 677–680.
7. CHIANG, K. S., SUEOKA, N. (1967) Replication of chloroplast DNA in *Chlamydomonas reinhardtii* during vegetative cell cycle; its mode and regulation. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, **57**, 1506–1513.
8. EDELMAN, M., SCHIFF, J. A., EPSTEIN, I. T. (1965) Studies of chloroplast development in *Euglena* XII. Two types of satellite DNA. *J. Mol. Biol.*, **11**, 769.
9. ELLIS, R. J. (1973) The biogenesis of chloroplasts: protein synthesis by isolated chloroplasts. *Biochem. Soc. Transaction*, **1**, 13–16.
10. ELLIS, R. J., HARTLEY, M. R. (1971) Sites of synthesis of chloroplast proteins. *Nature New Biol.*, **233**, 193.
11. GOLDBERG, I. (1971) Ph. D. Thesis, Hebrew University, Jerusalem.
12. GOODENOUGH, U. W., LEVINE, R. P. (1970) Chloroplast structure and function in ac-20 a mutant strain of *Chlamydomonas reinhardtii*. III. Chloroplast ribosomes and membrane organization. *J. Cell. Biol.*, **44**, 547–562.
13. GYURJÁN, I., KERESZTES, Á., RAKOVÁN, J., SCHRÓTH, Á. (1976) Kloroplasztisz mutációk strukturális és funkcionális vizsgálata *Chlamydomonas reinhardtii*-ban. I. Kloroplasztisz finomszerkezet, pigmenttartalom és fotoszintetikus aktivitás. *Biológia* **25**, 50–71.
14. HASELKORN, R., FERNÁNDEZ-MORAN, H., KIERAS, F. J., VAN BRUGGEN, E. F. V. (1965) Electron microscopic and biochemical characterization of fraction I protein. *Science*, **150**, 1598.
15. KAWASHIMA, N., WILDMAN, S. G. (1970) Fraction I protein. *Ann. Rev. Plant Physiol.*, **21**, 325–358.
16. KAWASHIMA, N., WILDMAN, S. G. (1972) Studies on fraction I protein. IV. Mode of inheritance of primary structure in relation to whether chloroplast or nuclear DNA contains the code for a chloroplast protein. *Biochim. Biophys. Acta*, **262**, 42–49.
17. KONINGS, R. N. A., BLOEMENDAL, H. (1969) In: MAURER, R. H.: Disc electrophoresis and related techniques of polyacrylamide gel electrophoresis. Walter de Gruyter, Berlin, p. 79.
18. LEVINE, R. P., GOODENOUGH, U. W. (1970) The genetics of photosynthesis and of the chloroplast in *Chlamydomonas reinhardtii*. *Ann. Rev. Genet.*, **4**, 397–408.

19. LOENING, V. E. (1967) The fraction of high molecular weight ribonucleic acid by polyacrylamide gel electrophoresis. *Biochem. J.*, **102**, 251–257.
20. LOENING, V. E., INGLE, J. (1967) Diversity of RNA components in green plant tissue. *Nature*, **215**, 363–367.
21. METZ, L. J., BOGORAD, L. (1971) Mendelian and uniparental alteration in erythromycin binding by plastid ribosomes. *Science*, **174**, 707–709.
22. METZ, L. J., BOGORAD, L. (1972) Altered chloroplast ribosomal proteins associated with erythromycin resistant mutants in two genetic systems of *Chlamydomonas reinhardtii*. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, **69**, 3779–3789.
23. OHAD, I., EYTON, G., JENNINGS, R. C., GOLDBERG, I., BAR-NUN, S., WALLACH, D. (1972) Biogenesis of chloroplast membranes in *Chlamydomonas reinhardtii*. *Proc. II. Int. Congr. Photosynth. Res.*, **3**, 2563–2584.
24. RAWSON, I. R. Y., HASELKORN, R. (1973) Chloroplast ribosomal RNA genes in the chloroplast DNA of *Euglena gracilis*. *J. Mol. Biol.*, **77**, 125–132.
25. SAGER, R. (1972) Cytoplasmic genes in *Chlamydomonas*. In: *Cytoplasmic genes and organelles*. Acad. Press New York. 49–106.
26. SAGER, R., RAMANIS, Z. (1970) A genetic map of non-Mendelian genes in *Chlamydomonas*. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, **65**, 593.
27. SCHLANGER, G., SAGER, R., RAMANIS, Z. (1972) Mutation of a cytoplasmic gene in *Chlamydomonas* alters chloroplast ribosome function. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, **69**, 3551–3555.
28. SCOTT, N. S., SMILLIE, R. M. (1967) Evidence for the direction of chloroplast ribosomal RNA synthesis by chloroplast DNA. *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, **28**, 598–603.
29. SHUMWAY, L. K., WEIER, T. E. (1967) The chloroplast structure of iojap maize. *Am. J. Bot.*, **54**, 773–780.
30. SMILLIE, N. M., KROTKOV, G. (1960) The estimation of nucleic acids in some algae and higher plants. *Can. J. Bot.*, **38**, 31–49.
31. STUTZ, E., VANDREY, R. (1971) Ribosomal DNA satellite of *Euglena gracilis* chloroplast DNA. *FEBS Lett.*, **17**, 277–280.
32. SURZYCKI, S. J. (1969) Genetic function of the chloroplast of *Chlamydomonas reinhardtii*. Effect of rifampin on chloroplast DNA dependent RNA polymerase. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, **63**, 1327–1334.
33. SURZYCKI, S. J., GOODENOUGH, V. W., LEVINE, R. P., ARMSTRONG, J. J. (1969) Nuclear and chloroplast control of chloroplast structure and function in *Chlamydomonas reinhardtii*. In: *Control of Organelle Development* (ed.: MILLER, P. L.) Cambridge Univ. Press.
34. WETTSTEIN, D. VON (1967) Chloroplast structure and genetics. In: *Harvesting the Sun. Photosynthesis in Plant Life*. (eds: San-Pietro, A., Greer, F. A., Army, T. J.) pp. 153–190. Acad. Press, New York.

STRUCTURAL AND FUNCTIONAL INVESTIGATIONS OF CHLOROPLAST MUTANTS IN CHLAMYDOMONAS REINHARDII

II. Total Nucleic Acid Content and Ribosomal RNA Fractions

I. Gyurján, Á. Keresztes*, G. Erdős

Eötvös Loránd University, Department of Genetics, and Department of Plant Anatomy*
Budapest, Hungary

The nucleic acid content was investigated in synchronized cultures of wild-type and several chloroplast-mutant strains of *Chlamydomonas*. Our results suggest that strains 494/27 and 494/28 contain only about half of the wild-type RNA. The other investigated mutants show an RNA deficiency of about 20%. This decrease seems to concern all RNA fractions, as is suggested by the results of polyacrylamid gelelectrophoresis of ribosomal RNA, but the relative plastid rRNA content is practically unchanged. In the extremely light-sensitive, pigment-deficient mutants the 25 S rRNA content is considerably below the normal.

KONGRESSZUSI HÍREK

NUKLEINSAV MUNKAÉRTEKEZLET. SIKLÓS, 1976. JÚNIUS 2—5.

1976. június 2. és 5. között Siklóson nukleinsav munkaértekezlet zajlott le, ilyen formában hazánkban első ízben, melyen a hazai nukleinsav kutatás csaknem teljes létszámában képviseltette magát. A munkaértekezlet összehívását az MTA Biológiai Tudományok Osztályának Biokémiai Bizottsága kezdeményezte. Lebonyolításával a POTE Biológiai Intézetét bízta meg. A szervezésben részt vett az említettekén kívül még a Magyar Biokémiai Társaság, valamint a „Bioreguláció” országos kutatási főirány szakmai plénuma. Az értekezletet a felsorolt szervek anyagilag is támogatták. Támogatást kaptunk még a CHINOIN Gyógyszer és Vegyészeti Termékek Gyárától is.

A munkaértekezleten mintegy 40 előadás és referátum hangzott el, 4 témakörben. Ezek a következők voltak:

1. Deoxiribonukleinsav és kromatin
2. Transzkripció
3. RNS processzió és transzport
4. Regulációs mechanizmusok.

Moderátorként közreműködtek: Hidvégi Egon (Budapest), Jeney András (Budapest), Molnár János (Pécs), Staub Mária (Budapest), Tigyi András (Pécs), Venetianer Pál (Szeged).

A fenti témakörbe be nem sorolt, de a „Bioreguláció” szakmai plénumához tartozó előadások, illetve beszámolók (5 előadás) külön szekcióban hangzottak el, Szabó Gábor elnökletével.

Június 3-án esti programként kötetlen megbeszélést tartottunk a hazai nukleinsav kutatás technikai- és káderfeltételeiről, valamint a gondokról és perspektívákról. Ezen program moderátora Alföldi Lajos (Szeged) volt.

Az I. témakör első előadását Sain Béla (Szeged) tartotta a restriktív endonukleázokról, azok alkalmazásáról a DNS szerkezet és funkció kutatásában. A DNS kettős láncot hasító restriktív enzimek a közelmúltban kerültek az orvosi-biológiai kutatás homlokterébe. Jelentőségük elsősorban a gén szerkezetének kutatásában van, de lehetőséget teremt arra is, hogy nagyobb géndarabokat hordozó vektorba (Plazmidba) építsék be. Az előadás folytatásaként a munkacsoport, Kiss Antal, Sain Béla, Csordás-Tóth Éva és Venetianer

Pál beszámolt egy új restriktív enzim izolálásáról a *Bacillus sphaericus*-ból. A szerzők jellemezték az új enzimet.

Staub Mária (Budapest) a DNS szintézis mechanizmusáról kialakított képet foglalta össze az irodalmi adatok alapján. A prokaryoták és DNS-fágok replikációjának modelljét mutatta be. Összefoglalta az eukaryoták DNS-replikációjáról szerzett ismereteket, aláhúzza a folyamat enzimeinek a jelentőségét. A malignitás molekuláris alapjaira hívta fel a figyelmet a replikációs rendszer ismertetése során. Saját DNS-szintézisre vonatkozó kísérleteit is bemutatta.

Vincze István (Budapest) irodalom alapján készült összefoglaló előadást tartott a DNS excíziós repair enzimrendszerről. A szerző részletesen a prokaryota rendszerekkel foglalkozott és az eukaryota-prokaryota rendszerek közötti különbséget röviden tekintette át. A DNS repair rendszerek biológiai jelentőségét aláhúzza napjainkban a kemizálódással kapcsolatos fokozott DNS sérülésveszély.

Institóris Etel (Budapest) a dibrómdulcitnak a Yoshida sejt DNS-ének replikációjára kifejtett hatásáról számolt be. A citosztatikum a DNS-ben keresztköteket hoz létre és ez a hatás időben párhuzamosan alakul ki a szer által kiváltott letális hatással.

Kellermayer Miklós (Pécs) a magkromatin organizációjáról beszélt. Az előadás felhívta a figyelmet olyan hisztokémiai módszerekre, amelyekkel a magi „szabad” DNS meghatározható. A módszer lényege annak nagyfokú érzékenysége.

Bagi György (Szeged) előadása a kromatin templát aktív frakciójának szekvencia összetételéről szólt. Patkány májból izolált egy nukleáz érzékeny és 2 mM Mg^{2+} jelenlétében oldható kromatin frakciót. Kimutatta róla, hogy templát-aktivitása háromszor nagyobb, mint a nem izolált kromatiné és feldúsul máj RNS-t kódoló szekvenciákban.

Gyapay Gábor (Budapest) a metil-csoportban 3H -al jelzett ϵ -aminotrimetil-lizinnel a kromatin komponenseihez történő kötődését vizsgálta. NK/Ly ascites tumorból származó kromatin frakciókkal azt kapták, hogy nonhisztonok esetén egy nagy molekulású fehérje frakció, míg a hisztonok esetében az F_1 (H_1) és az F_2 a_1 (H_4) frakció jelölődött. A DNS tekintetében is jelentős jelölődés volt tapasztalható.

Schablik Marcella (Debrecen) részletes irodalmi összefoglalást adott az eucellulák DNS felvételéről, az idegen DNS sorsáról, valamint a sejt megváltozott tulajdonságairól. Sok ellentmondó irodalmi adat nehézzé teszi a terület áttekintését. Nem bizonyították még a mai napig sem, hogy a felvett DNS valóban integrálódik-e a gazda DNS-el.

Földes István (Budapest) és munkatársai kidolgozták a mycobacteriophagok koncentráálásának és tisztításának új, megbízható módszerét Peg 6000-1, majd meghatározták két mycobacteriophag sűrűségét CsCl-ben, szedimentációs koeficiensét, DNS-tartalmát és molekulásúlyát valamint a két phag és gazdasejtjeik DNS-ének olvadáspontját, sűrűségét CsCl-ben, a nukleinsav bázisarányokat, a szedimentációs koeficienseket, és a nyert adatokból kiszámították a DNS mólsúlyokat. Végül meghatározták a DNS metilbázisait.

A II. témakör első előadója Udvardy Andor (Szeged) referátumában a riboszomális RNS bioszintézisének szabályozásával foglalkozott. Kiindulva a baktériumsejtben *in vivo* megfigyelt legfontosabb szabályozási jelenségek-

ből, áttekintette az *in vitro* eredményeket, köztük saját vizsgálatait is. Megállapította, hogy a riboszomális RNS gének promotereit különleges tulajdonságok jellemzik, amelyek alkalmasak az *in vivo* jelenségek magyarázatára. Ismertette és kritikailag értékelte a ppGpp szerepére vonatkozó ellentmondó adatokat, és állást foglalt amellett, hogy ez az anyag a polimerázzal kölcsönhatásba lépve specifikusan gátolja a riboszomális RNS szintézist. Röviden érintette az eukaryota rendszerek problémáját is és megállapította, hogy még nincs megfelelő *in vitro* transzkripció rendszer e kérdés tanulmányozására.

Juhász Péter (Pécs) egy nukleoláris eredetű protein-kináz aktivitásról számolt be, amely alfa-aminitinnel gátolható és feltevésük szerint szerepet játszik a nukleoláris riboszóma-RNS szintézisének szabályozásában, valószínűleg az RNS-polimeráz-A foszforilálása útján.

A következő referátumban Venetianer Pál (Szeged) áttekintést adott a reverz transzkriptáz enzim által szintetizált komplementer DNS molekulák eszközként való felhasználásáról a molekuláris biológiában. Áttekintve a módszer technikai és elvi problémáit, ismertette és értékelte a legfontosabb elért eredményeket és megkísérelte felmérni a felhasználás jövőbeli leggyümölcsözőbb lehetőségeit a „genetic engineering” (génsebészet) területén.

Schlamadinger József (Debrecen) ismertette a legjobban ismert transzkripció rendszer, a lac-operon (*E. coli*) sajátosságait. Kiindulva a regulációért felelős DNS szakasz nemrég leírt teljes nukleotidszekvenciájából, rámutatott arra, hogy a szekvencia egyes régiói hogyan határozzák meg a rendszer szabályozhatóságát. Az alapos összefoglaláshoz logikusan kapcsolódott saját eredményeik ismertetése. Különböző anyagokról megállapította, hogy azok a lac-operon transzkripciójának specifikus gátlószerei. Ezek az anyagok a DNS AT-gazdag régióhoz kötődnek és feltehetően ez magyarázza, hogy olyan alacsony koncentrációban, ahol a sejt összes fehérje- és nukleinsavszintézisét még nem gátolják, az AT-gazdag lac promotor működését már bénítják.

Daróczy Attila (Debrecen) a prymicin hatását vizsgálta tiszta *in vitro* rendszerben az RNS-polimerázra. Kísérletei szerint a transzkripció gátlás elsősorban az elongációs folyamat specifikus gátlásának tulajdonítható.

A harmadik témakör első referátumát Hidvégi Egon (Budapest) tartotta. Irodalmi adatok és saját kísérletek alapján beszámolt az eukaryota rRNS szintézis és processzió alapvető problémáiról. Kiemelte, hogy a rRNS prekürzora 45S-nél nagyobb szedimentációs koefficiensű (65S és 85S pre-rRNS) és a 45S pre-rRNS ennek produktuma. A 45S-nél nagyobb prekürzor molekulák rendkívül érzékenyek az endogén ribonukleázra. A processzió a 3' végről indul el és a rRNS szekvenciák elrendeződése a 45S RNS-en belül olyan, hogy a 5' végen helyezkedik el a 28S, majd spacer után a 18S rRNS. Beszámolt a nukleoláris riboszóma biogenezisről is, morfológiai és biokémiai adatok alapján.

Borbély György (Szeged) arról az érdekes jelenségről számolt be, hogy az *Anacystis nidulans* nevű kék-zöld alga 23S RNS-ének érés utáni törését a fágfertőzés feltartóztatja.

A kismolekulasúlyú sejtmag RNS-ekről tartott előadást Fónagy Anna (Budapest). Az irodalmi adatok és saját kísérletek alapján összeállított referátum a nomenklatúrával, szintézisük és előfordulásuk lokalizálásával, továbbá szerkezeti problémákkal foglalkozott. Kísérleteik szerint az egyes kismolekulasúlyú sejtmag RNS frakciók szintézisének erőteljes növekedése lép fel parciális hepatektómia és radioaktív besugárzás hatására. Ezek a változások nagyrészt párhuzamosak voltak a rRNS szintézisének fokozódásával.

Ezt követően 4 előadás foglalkozott a mRNS processzió néhány speciális problémájával, valamint a pre-mRNS-informoer komplexnek mint specifikus ribonukleoproteinnak a nukleocitoplazmatikus transzportjával.

Molnár János (Pécs) referátumában jellemezte a pre-mRNP komplexet, majd saját kísérleteiket mondta el, mely szerint a pre-mRNP-ben az RNS jelentős része másodlagos szerkezettel rendelkezik és a fehérje komplex, az infofer tartalmaz olyan endonukleáz aktivitást, amely a hosszabb dsRNS szekvenciákat darabolja. Az infoferben 2 fő fehérjekomponens található, melyek funkciója a pre-mRNS kötése és intranukleáris transzportja. A minor komponensek között fontos processzing-enzimek találhatók, melyek vizsgálátát, identifikálását jelentős feladatuknak tekintik.

Bajszár György (Szeged), a pre-mRNS és mRNS 5' végén található invertált metilezett „cap” keletkezésének mechanizmusáról és ezen szerkezetek analízisének lehetőségeiről referált, majd azokról a kísérletekről számolt be, melyeket a POTE Biológiai Intézetével kollaborációban végeztek, mely szerint az infofer rendelkezik azokkal az enzim-aktivitásokkal, melyek a „cap” képződésért felelősek. Találtak az infofer preparátumban olyan enzim aktivitást is, mely ezt a „cap”-et bontja. Fontosnak tartják, hogy a dsRNS szekvencia jó szubsztrát a „cap”-képző enzimek számára.

Tomsányi Tihamér (Pécs) a pre-mRNS, illetve a mRNS 3' végén elhelyezkedő poliadenilsav szekvenciákkal kapcsolatos irodalmi adatokat referálta. A poly(A)-szekvenciák specifikus ribonukleoproteinek formájában izolálhatók. Saját kísérleti eredményeik szerint patkánymájban, csakúgy mint Ehrlich ascites daganatsejtekben a poly(A)-RNP fehérje összetétele a nukleocitoplazmatikus transzport során kvalitatíve nem változik meg, tehát a poly(A) vég ugyanazon polipeptid láncokat tartalmazza mind a magban, mind a poliszómákon (a mRNS többi része a maghártyánál „átöltözik”).

Komáromy László (Pécs) az eukaryota transzkripció szubmikroszkópos morfológiai vizsgálatainak fontosabb adatait referálta, majd a sejtmag pre-mRNP komplexéinek saját kísérleteken alapuló újabb morfológiai vonatkozású adatait ismertette. Kifejtette azt az álláspontot, hogy a sejtmagban in situ megfigyelhető interkromatikus granulumok az izolátumban megtalálható 30S partikulumoknak felelnek meg, a perikromatikus fibrillum pedig ezek előanyagának tekinthető.

A „regulációs mechanizmusok” c. negyedik témakörben három referátum és nyolc előadás hangzott el, melyek a génaktivitás és a génextpresszió szabályozásával foglalkoztak, döntő részben eukaryota rendszerekben.

Két referátumban (Tigyi András és Jeney András) az eukaryota genom szabályozásának hipotetikus modelljeivel, a fontosabb szabályozási tényezőkkel (szteroid hormonok, kromatin fehérjék foszforilációja, protein-kináz aktivitás, karcinogén effektus stb.) valamint a sejtproliferáció vizsgálatának elvi és gyakorlati kérdéseivel foglalkozott. Részletes tájékoztatás szerepelt a fiziológias körülmények között előforduló polyaminokról, melyek komplex hatásuk mellett, mint polikationok, képesek nukleinsavakhoz is kötődni, részt vehetnek a génaktivációban és szerepük lehet a neopláziás sejtosztódásban (Menyhárt János).

Az elhangzott kiselőadásokból a következő eredményeket kell kiemelni: 1. A magfehérjék bonyolult rendszerének vizsgálatában új metodikai lehetőséget jelent a két-dimenziós poliakrilamid gélelektroforézis, mellyel igen nagy számú frakció szeparálható; a módszer autoradiográfias technikával össze-

kapcsolva lehetővé teszi a bioszintetikus folyamatok, a fehérje foszforiláció stb. mélyreható analizisét (Kellermayer Miklós). 2. A gyógyszerek okozta mutagenézis tesztelésére kiváló objektumnak bizonyult a humán kromoszóma-tenyészet. A lymphocytá preparátumokkal, a modern sávtechnika segítségével, több krónikusan adagolt kurrens pharmon mutagenetikusan hatását sikerült igazolni, ami a módszer nagy jelentőségére utal a klinikai gyakorlatban (Fekete György). 3. Szeberényi és munkatársai (Pécs) széntetraklorid kezelés hatására fellépő fokozott RNS polymeráz és fehérjekináz aktivitásról számoltak be. Ez a munka meglehetősen újszerű megközelítésben vizsgálja a széntetraklorid kezelés hatására fellépő degeneratív változások hátterében meghúzódó molekulár-biológiai eseményeket. A világszerte ezen a területen folyó kutatások elsősorban a citoplazmában, közelebből az endoplazmás retikulumban fellépő fragmentációval, mikroszomális enzimaktivitás-változásokkal és a riboszomális fehérjeszintézissel foglalkoznak. Ezzel szemben a jelen vizsgálatok igen érdekes adatokat szolgáltatnak a sejtmag működésében bekövetkező változásokról.

Kovalszky Ilona (Budapest) az MC-29 vírussal indukált hepatómából kialakított transzplantálható hepatóma egyes enzimaktivitását hasonlította össze normál csirkemájjal, továbbá ezen enzimek stimulálhatóságát (pl. szteroiddal). Munkája második felében a radioaktív hydrocortison cytosolreceptoron keresztül történő kötődését a DNS-hez vizsgálta. Ez a munka adatot szolgáltatott a hepatóma és az egészséges máj eltérő regulációs mechanizmusaira és azok egyik eredőjére.

Kari Csaba (Szeged) immáron öt éve tartó vizsgálatainak legújabb eredményéről számolt be, amelyek a GTP ppGpp-vé történő metabolikus átalakulás egyes részleteit tisztázták. Ezen munka igen nagy jelentőséggel bír a riboszomális RNS-ek szintézis szabályozásának megismerése területén.

Raskó István (Szeged) „Génexpresszió hibrid sejtekben” című előadásában beszámolt növényi sejtek és emlős sejt közötti sejthibridek kialakításáról. Rendkívül érdekes kutatási feladatát igen korszerűen végezte és meggyőző módon demonstrálta a hibrid-sejtek kialakítását és stabilitását.

Tóth Miklós (Budapest) több éve tartó vizsgálatairól adott referátumot, amelyben a testosteron hatására a vesicula seminalisban beinduló fehérjeszintézis genetikai szinten megnyilvánuló szabályozási lehetőségeit elemezte. Vizsgálatai rendkívül igényesek, korszerűek.

Az anyagot a moderátorok által készített értékelések alapján sajtó alá rendezte:

Molnár János
POTE Biológiai Intézet

K Ö N Y V I S M E R T E T É S

E. THOMAS and M. R. DAVEY: *From Single Cells to Plants* 171 oldal, 59 ábra. Wykeham Publications (London) Ltd., London and Winchester 1975. £ 2.5 net in U.K.

E könyvet olvasva különösen fontos és egyben tanulságos is, hogy mindvégig szem előtt tartjuk; kiknek íródott és mi célból. Ne ugorjunk át tehát a kiadó eligazítását az első lapon, melyből megtudhatjuk, hogy a Wykeham Science Series könyvei a középiskola és az egyetem közötti szintkülönbséget hivatottak áthidalni, vagyis egyetemi előkészítő tankönyvek. Áttekintve a sorozat jegyzékét, kitűnik, hogy az egyes kötetek viszonylag szűk területeket ölelnek fel az egyes tudományszakokból, és témájuk kiválasztása — az eddig megjelent 39 kötet után — ötletszerűnek látszik. Elegendő azonban találmra felütni ezt a könyvet, hogy nyomban megállapíthassuk: olyan tartalmi mélységgel állunk itt szemben, amely nálunk ezen az oktatási szinten elképzelhetetlen. (Igaz, nem is öt év az egyetemi tanulmányok ideje Angliában, hanem csak három).

Szerzők az első 16 oldalon végigvezetik az olvasót a növényi szerv-, szövet- és sejtenyésztés látványos fejlődésének főbb állomásain, Haberlandt zseniális jóslataitól napjaink eredményeiig. Ez a képekkel jól illusztrált áttekintés — melynek gondolatait a későbbi fejezetek bontják ki részletesebben — önmagában is igen informatív olvasmány. Azonban már itt is, és a későbbi fejezetek olvasásakor is sajnálattal állapíthatjuk meg, hogy a könyv végéről hiányzik a részletes irodalomjegyzék, helyett csupán néhány összefoglaló munka bibliográfiáját kapjuk. Ez természetesen teljes mértékben megfelel a kiadó célkitűzésének, de nyilván korlátozza a könyv szakmunkaként való használhatóságát.

Az alapvető eszközök és műveletek leírása után (melyet a Függelékben közölt receptek egészítenek ki), Szerzők elsőként az izolált szervek tenyésztésével foglalkoznak, kiemelve mind az elméleti (szövetfejlődés-tani), mind a gyakorlati (pl. vírustalanítási) eredményeket. A hazai viszonyok ismeretében recenzius kiemelendőnek tartja J. G. Torrey vizsgálatait a szöveti szerkezet determinációjára vonatkozóan. Ezek egy kísérleti szövetfejlődéstan alapját vehetik meg, melynek térnyerése (esetleg a leíró szövetfejlődéstan rovására) oly kívánatos lenne.

A növényi sejtek tenyésztése c. fejezetben a kalluszok, sejtszuszpenziók és izolált sejtek morfológiájával és növekedési sajátágaival ismerkedhetünk meg, míg a protoplasztokkal külön fejezet foglalkozik, felölelve azok izolálását, tenyésztését és fúzióját. Ezután következik a sejt kultúrák morfogenezisének tárgyalása. Ennek a nálunk megint csak nem kellően méltányolt morfológiai-fiziológiai háttérterületi diszciplínának az ismertetésekor sem feledkeznek meg a Szerzők a gyakorlati alkalmazásról, melynek jó példája az orchideák vegetatív szaporítása.

Külön fejezet foglalkozik a mikrospórákból kiinduló embrioidok és haploid növények fejlődésével és ezek hasznáival a növénynemesítésben. Végül az utolsó fejezet a tágabb értelemben vett szövettenyésztés megoldandó problémáit és várható fejlődési irányait tárgyalja. Kellő hangsúlyt kapnak itt a protoplaszt-fúzióból nyert vegetatív hibridek és az ezek kiválasztására alkalmas szelekciós rendszerek. E kutatási terület fejlődésének ütemére jellemző, hogy itt már a könyv megjelenése óta eltelt időben is újabb jelentős eredmények születtek.

Kiknek ajánljuk tehát E. Thomas és M. R. Davey könyvét? Biológiai oktatásunk

különböző szintjein dolgozó kollégáinknak, biológiával foglalkozó egyetemi, főiskolai hallgatóinknak, valamint azoknak a több éve végzett szakembereknek, akik az alkalmazott vagy alapkutatásban dolgozva mun-

kájukhoz új megközelítési módokat keresnek, vagy egyszerűen csak ismereteiket kívánják korszerűsíteni.

Dr. Keresztes Áron

A kiadásért felel az Akadémiai Kiadó igazgatója. — Műszaki szerkesztő: Salgó István
A kézirat nyomdába érkezett: 1977. IV. 22. — Terjedelem: 7,7 (A/5) ív
78.4393 Akadémiai Nyomda, Budapest — Felelős vezető: Bernát György

MAGYAR
TUDOMÁNYOS AKADÉMIA
KÖNYVTÁRA

TARTALOM

FEUER L.: Egy mellékpajzsmirigyből izolált új bioaktív anyag, a litoralon felismerésének elméleti háttere. További elméleti megfontolások.	3
LÁNG E.: A szomatoszenzoros kérgi mezők hatása az afferens ingerület átvédésére a thalamuson keresztül	34
U. NAGY Zs. és CSABA Gy.: A hormonreceptorok deformálhatósága a postnatalis periódusban. Egyszeri gonadotropin kezelés hatása a pajzsmirigy reakcióképességére	47
GYURJÁN I., KERESZTES Á., N. RAKOVÁN J. és SCHRÓTH Á.: Kloroplasztisz mutációk strukturális és funkcionális vizsgálata Chlamydomonas reinhardii-ban. I. Kloroplasztisz finomszerkezet, pigment-tartalom és fotoszintetikus aktivitás	50
GYURJÁN I., KERESZTES Á. és ERDŐS G.: Kloroplasztisz mutációk strukturális és funkcionális vizsgálata Chlamydomonas reinhardii-ban. II. Össznukleinsav tartalom és riboszomális RNS frakciók	72

Kongresszusi hírek

MOLNÁR J.: Nukleinsav munkaértekezlet. Siklós, 1976. jún. 2—5	82
---	----

Könyvismertetés

THOMAS E. and DAVEY M. R.: From Single Cells to Plants (Dr. Keresztes Áron)	87
---	----

Ára: 20,— Ft

INDEX: 26073

Előfizetés egy évre: 30,— Ft

BIOLÓGIA (Budapest) 25/1, 1977

INDEX

FEUER, L.: Theoretical background of the recognition of a new bioactive substance, litoralon, isolated from the parathyroid. Further theoretical considerations	3
LÁNG, E.: Effects of somatosensory areas S _I and S _{II} upon transmission through the thalamus in cats	34
U. NAGY, S. and CSABA, G.: The deformability of hormone Receptors in the Postnatal Period. Effects of a single Gonadotropin treatment on the reactivity of the thyroid gland	47
GYURJÁN, I., KERESZTES, Á., N. RAKOVÁN, J., SCHRÓTH, Á.: Structural and functional investigations of chloroplast mutants in Chlamydomonas Reinhardii. I. Fine structure of chloroplasts, pigment content and photosynthetic activity	50
GYURJÁN, I., KERESZTES, Á., ERDŐS, G.: Structural and functional investigations of chloroplast mutants in Chlamydomonas Reinhardii. II. Total nucleic acid content and ribosomal RNA fractions	72

304.441

VII

biológia

25, 1977/2

AKADÉMIAI KIADÓ, BUDAPEST

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

- *teoretikus* cikkek
- valamely *munkacsoport* kísérletekre alapozott *elméletének* ismertetése, elsősorban a koncepció bővebb kifejtése
- a biológia valamely részterületének legújabb irodalmát *összefoglaló (review)* munkák
- az adott formában másutt nem publikált *kísérleti* beszámolók.

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

A kéziratokat gépelve, két példányban, a mellékleteket (rajzokat, fényképeket) egy példányban — az intézmény vezetőjének jóváhagyása után — a következő címre kérjük beküldeni:

BIOLÓGIA szerkesztősége
Dobozy Ottó techn. szerkesztő
1445 Budapest, Nagyvárad tér 4.

A dolgozatok fejléce tartalmazza a címet, a szerző(k) teljes nevét, az intézet és a város megnevezését, valamint a kulcsszavakat. A lapban megjelenő dolgozatokat a legfontosabb külföldi *referáló folyóiratok* angol nyelvű összefoglalójuk, illetve címük alapján *ismertetik*. Ezért célszerű a külön angol fordítás céljára készült összefoglalók szövegének informatív, szabatos megfogalmazása. A dolgozat végén jelöljék meg a *szerző nevét* és munkahelyének pontos *címét* (irányítószámmal). 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 a megjelent cikkekért az Akadémiai Kiadó által szabályozott ívhonorárium illeti meg, 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

Szerkesztő:
CSABA GYÖRGY

A szerkesztő bizottság
tagjai:

BALÁZS ANDRÁS
CSÁNYI VILMOS
DOBOZY OTTÓ
(technikai szerkesztő)
GUBA FERENC
KISZELY GYÖRGY
TÖRÖK LÁSZLÓ
VIDA GÁBOR



AKADÉMIAI KIADÓ, BUDAPEST

BIOLOGIA

ÉRTEKELTÉS A KISZÁMOLGÁSOKRÓL
FOLYÓLAT

1. Kísérlet
2. Kísérlet
3. Kísérlet
4. Kísérlet
5. Kísérlet
6. Kísérlet
7. Kísérlet
8. Kísérlet
9. Kísérlet
10. Kísérlet



MAGYAR
AKADÉMIAI
KÖNYVTÁRA

ÉLETKRITÉRIUMOK ÉS AZ ÉLŐ RENDSZER DEFINÍCIÓJA

G Á N T I T I B O R

Eötvös Loránd Tudományegyetem Genetikai Tanszéke, Budapest

Kulcsszavak: élet, életjelenségek, életkritériumok

Beérkezett: 1977. június 16-án.

Bevezetés

Az egzakt tudományok alapfogalmaik és legalapvetőbb összefüggéseik axiomatikus pontosságú megfogalmazására épülnek. A biológia napjainkban éri el fejlődésének azt a stádiumát, amikor leíró jellegű tudományból egzakt tudománnyá válhat, ehhez mindenekelőtt alapfogalmainak axiomatikus pontosságú megfogalmazására van szükség. Az alapfogalmak között igen lényeges szerepe van az életkritériumoknak, amelyek segítségével lehetővé válik az élő és élettelen rendszerek elkülönítése. Ezért az életkritériumok helyes kiválasztása és megfogalmazása döntő fontosságú.

A biológia rendkívül szerteágazó világában az alapvetően közöset és jellemzőt azonban nem egyszerű kiszűrni, hiszen aligha létezhet olyan ember, aki az élővilág minden ágát ismerné. Ezért az alábbiakban egy olyan kritériumrendszert ismertetünk, amely feltehetően alkalmas lesz az élővilág egységes jellemzésére, ehhez azonban szükséges, hogy az élővilág legkülönbözőbb területein dolgozó kutatók megtegyék a vele kapcsolatos megjegyzéseiket, bírálatukat és kiegészítésüket. Az itt leírt kritériumrendszer a szerző 1971-ben közölt kritériumrendszerének [5] többszörösen javított változata. Minden bírálatot, kiegészítést vagy megjegyzést köszönettel fogad a szerző.

Az életjelenségekről általában

A klasszikus biológia szerint az életet a következő minőségi sajátosságok, ún. életjelenségek jellemzik: táplálkozás (később anyagcsere), mozgás (hely- vagy helyzetváltoztató mozgás), ingerlékenység, növekedés, szaporodás. E jelenségek felállításuk idején elsősorban a makroszkopikusan észlelhető sajátosságokra vonatkoztak. Hamarosan kiderült, hogy ezek — legalábbis makroszkopikusan — egyrészt nem teljesen általánosak, másrészt, hogy hasonló makroszkopikus sajátosságok egyes esetekben az élettelen természetben is megtalálhatók. A mikrobiológia fejlődésével, majd különösen a vírusok felfedezésével nyilvánvalóvá vált, hogy az említett öt életjelenség nem elegendő az élő rendszerek jellemzésére. A legutóbbi két-három évtizedben pedig a molekuláris biológia számos olyan általános, jellemző tulajdonságot fedezett fel az élő rendszerekben, amelyet a klasszikus biológia képviselői még nem ismerhettek, de amelyek nélkül az élő rendszerek jellemzése nyilvánvalóan nem lehetséges.

Anyagcsere. A legfontosabb, legáltalánosabb és egyben szinte soha nem vitatott életjelenség. Definíálására az életkritériumok kapcsán a későbbiekben sor kerül.

Individualitás. Az individualitást nem az egyén, hanem az egyed értelmében kell érteni. Az élőlényeket azzal is szokták jellemezni, hogy az élőlény egész, egység, amely nem osztható két részre úgy, hogy mindkét fél élő legyen. Ez, mint később részleteiben látni fogjuk, igaz. Mégis e megállapítással szemben számos ellenvetés tehető. A növények és az alacsonyabb rendű állatok, mint ismeretes két, esetleg több darabra is szétvághatók úgy, hogy megfelelő körülmények között mindegyik daraból teljes állat vagy növény fejlődik ki. Ez az ellentmondás a szerveződési szintek ismeretében feloldható.

Individualitás alatt azt is szokták érteni, hogy az élőlény térben el van különítve a többi egyedtől. Ez azonban az élő rendszerek között nem szükség-szerűen általános. A sziámi ikrek például nemcsak hogy térben nem voltak elválasztva, de véredényrendszerük is összeköttetésben állt egymással, mégis vitathatatlan, hogy különálló individuumok voltak. A növényvilágban az egyedek közötti térbeli elválasztás hiánya általános, a bújtatással szaporított növények gyökereiken keresztül összeköttetésben maradhatnak akár egész életük során át. Az egysejtűek körében, például a sokmagvú algákban az egyedi sejtek nincsenek fallal elválasztva, és ismeretes, hogy a soksejtű szervezetek sejtjei között olyan kapuk (gap) találhatóak, amelyeken a sejtek között a makromolekulák cseréje is lehetséges.

Az egység fogalmát a biológiában tehát nem lehet geometriailag értelmezni, hanem csakis funkcionálisan. Ugyanakkor szükséges, hogy az élő rendszer a környezetétől térben el legyen különítve, mert ahhoz, hogy a rendszer működni tudjon, a rendszer elemei közötti távolságnak szükség-szerűen kisebbnek kell lennie a közöttük levő kölcsönhatás maximális hatótávolságánál [6]. Mivel az élő rendszerek lágy rendszerek, azaz működésük oldatban történik és kölcsönhatásaik kémiai jellegűek, speciális szemipermeábilis határfelületek nélkül nem létezhetnek. Nem az élettelen környezettől való elkülönítés, hanem a rendszer alapelemeinek a kölcsönhatási távolságon belül való tartása az elsődleges követelmény [7].

Célszerű itt különbséget tenni azon anyagok között, amelyek a rendszert alkotják, a rendszer működéséhez organizációsan tartoznak hozzá, vagyis amelyek a rendszer belső anyagai, és azon anyagok között, melyek nem tartoznak szerveződésileg a rendszer saját komponensei közé, vagyis amelyek „külső” komponensek. A külső komponensek megtalálhatók az élő rendszereket határoló felületeken belül is, a táp- és hulladékanyagok például akkor is külső komponensei a sejtnak, ha a sejten belül helyezkednek el.

A biológiai „egység” vagy „egész” funkcionális és organizációs, nem pedig geometriai kategória. A biológiai rendszerek egysége inherens (belső lényegéből fakadó) tulajdonság, amely közvetlenül e rendszerek organizációs módjából származik. A továbbiakban az egység és egész kifejezéseket ebben az értelemben és nem geometriai értelemben fogjuk használni.

A biológiai individuum funkciója genetikailag determinált. Ennek az alapján bizonyos ellentmondások feloldhatók. Nyilvánvaló például, hogy két egymás melletti szomatikus sejt külön individuum akkor is, ha közöttük

a gap-eken keresztül plazmahíd van, mert mindegyik sejtet külön genetikai állomány determinálja. Egy növényi szövetdarabot vagy levágott ágat (amelyekből teljes növény nevelhető) nem lehet élő individuumnak felfogni, mert az individuum determináltsága a gyökérzetet, szárat, levélzetet együttesen foglalja magában. A sziámi ikrek két, genetikailag determinált individuumot alkottak, noha a fejlődés során fellépő kóros elváltozások térbelileg összekötötték őket.

Ugyanakkor, ha az individualitás kritériumául a genomot választjuk, a polienergidas sejtet sok individuumnak kellene tekinteni, sőt a diploid sejteket két individuumnak, hiszen a genetikai állomány kétszeresen van meg benne, ami nyilvánvalóan helytelen álláspont lenne. Végül az ivaros szaporodással szaporodó élőlények egy-egy nemét képviselő egyede csak fél individuum lenne, hiszen biológiailag teljes értékű genetikai információt csak a két nem egy-egy egyede együttesen képvisel. Nyilvánvaló tehát, hogy a genom nem lehet az individualitás kritériuma.

A megoldást az a felismerés hozza meg, hogy az élőlények szabályozott és programvezérelt rendszerek. Az a rendszer, amelyben az események egységes program által vezérelten mennek végbe, egyetlen individuumnak tekinthető. A két fa, amely gyökéren keresztül még összeköttetésben van egymással, csakúgy, mint a sziámi ikerpár, két-két individuum, mert külön-külön egységes program által vezérelten működnek akkor is, ha a külön programok a gyökér (vagy az összenövés) következtében bizonyos összhangban vannak. A polienergidas sejt viszont egyetlen individuum, mert eseményei egységes program által vezéreltek. Éppúgy egyetlen individuum a diploid sejt és külön-külön individuum a hím és női egyede valamely fajnak. Érdekes példaképpen bemutatunk egy fát (Szentmihályhegy, Nagymaros), amely eredetileg két külön fa volt (bár nincs kizárva, hogy azonos töről indult két sarjhajtás), ahol a két törzs a fejlődés bizonyos szakaszában kb. 2 méter magasan teljesen egybenőtt, egyetlen lombkoronát fejlesztve ki. Minthogy a teljes fa egységes program által vezérlődik, egyetlen individuumot alkot. (1. kép.)

Mozgás. Egyike a legtöbbet vitatott életkritériumoknak. Biológiai értelemben mozgás alatt makroszkopikus, kinetikus mozgást értünk (makroszkopikusnak véve a csak mikroszkóp alatt megfigyelhető hely- vagy helyzetváltoztató mozgást is), amelynek segítségével az élő rendszerek helyüket vagy helyzetüket képesek változtatni. A növekedés és szaporodás közvetlen fizikai következményeként létrejövő hely- vagy helyzetváltozás nem tartozik ebbe a kategóriába. Természetes, hogy a növény növekedése közben folyamatosan változtatja részeinek helyzetét „aktív” mozgás nélkül is. A mozgás az élő rendszerek meglehetősen általános tulajdonsága. Kinematográfiai felvételek mutatták meg, hogy a látszólagosan aktív mozgást nem mutató növények is végeznek makroszkopikus mozgást.

Az aktív mozgás ugyanakkor nem általános az élővilágban. Hely- vagy helyzetváltoztató mozgást az egysejtűek és prokarióták közül csak a csillós-, ostoros- vagy amoeboid-mozgásra képes sejtek mutatnak, ideértve a kovamoszatokra jellemző mozgást is. Ugyanakkor minden eukarióta sejtben belül — legalábbis a sejtosztódás során — aktív intracelluláris mozgási folyamatok figyelhetők meg. Az eukarióta sejtek származásának endoszimbionta elmélete tette világhosszá, hogy az intracelluláris mozgás a prokarióták körében



I. kép. Két egymás mellett nőtt fa törzse mintegy 2 m magasságban összeforrott. Így az eredetileg két individuum egyetlen individuummá vált. (Nagymaros, Mihályhegy)

Fig. 1. Coalescence of the trunks of two adjacently growing trees in about 2 m height above ground, two individuums gave rise to-one. (Nagymaros, Mihályhegy, Hungary)

nem általános, s az eukariótákban ez csak bizonyos endoszimbiózis révén vált általánossá [14—16]. Ily módon az aktív mozgást sem makroszkopikusan, sem intracellulárisan nem lehet az előre jellemző kritériumként elfogadni.

Növekedés-szaporodás. A klasszikus életkritériumok közé tartoznak, nélkülük az élővilág nem létezhet. Kérdés, hogy egymástól független kritériumok-e. A sejtek esetében a növekedés a szaporodási folyamat közvetlen része, és a sejt csak akkor képes osztódni, ha a növekedési folyamatban meghatározott stádiumig eljutott. Nagyon jól mutatja ezt HARTMANN vizsgálata, aki a normális körülmények között kétnaponként osztódó amőbát 130 napon keresztül naponta operációnak vetette alá úgy, hogy a sejtmag érintetlenül hagyásával citoplazmájának kb. egyharmad részét naponta leoperálta. Az amőba e kezelés során nem pusztult el, de a 130 napon keresztül egyetlen alkalommal sem osztódott, mert soha nem érte el a kívánt növekedési stádiumot [10, 21].

A soksejtű organizmusok szaporodása csak közvetetten kapcsolódik a növekedésükhöz. Ugyanakkor viszont a növekedés döntően a sejtek szaporodásának a következménye. Növények esetében egyébként is vitatható, hogy a dugványozással történő szaporítás növekedésnek, szaporodásnak vagy regenerálódásnak fogható-e fel. Ezért a növekedés-szaporodás jelenségét célszerű összevontan tárgyalni.

A növekedés-szaporodás az élővilágban általános és nélkülözhetetlen, ugyanakkor nem jellemzője magának az élő állapotnak. A kultúrnövények és háziállatok egy része eleve szaporodásképtelen, az ivartalanított állatok sem képesek utódok létrehozására és az öregedő állatok is elveszthetik szaporodó képességüket anélkül, hogy ezzel együtt életüket is elvesztenék. A növekedés-szaporodás képességének megléte nem lehet kritériuma az egyedi életnek.

Információs műveletek. Minden létező hordozza a saját felépítésére és működésére vonatkozó információkat. Léteznek viszont olyan rendszerek, amelyek képesek saját maguktól független dolgokra és eseményekre vonatkozó információkat is hordozni. Ilyenek például a könyvek, a mágnesszalagok, a hanglemezek, a lyukkártyák stb. Ezek a rendszerek mind az ember által létrehozott technikai alkotások.

A természetben e „többletinformáció”-hordozó kapacitással egyedül az élő rendszerek bizonyos alrendszerei rendelkeznek. Ilyen információs alrendszerek a genetikai állomány, az agy, az immunrendszer stb. Ezek nemcsak saját maguk működésére és felépítésére vonatkozóan hordoznak információt, hanem magára az egész élő rendszerre, esetleg az élő rendszeren kívüli világra vonatkozóan is. Az információhordozó alrendszerek jelenléte kivétel nélkül minden élő rendszer sajátossága és az élővilág kifejlődésének elengedhetetlen kritériuma.

Valamely rendszerben kódolt információ akkor válik valóban információvá, ha létezik olyan rendszer, amely ezt az információt leolvasni és valamilyen módon hasznosítani képes. Ezért az élő rendszerekre nemcsak az a jellemző, hogy bizonyos alrendszereik többlet-információt képesek tartalmazni, de az is, hogy ezen információkat leolvasni és hasznosítani, sőt a szaporodás során egyes információkat replikálni is képesek. Nemcsak az információk tárolása a jellemző az élőlényekre, hanem az információs műveletek végzésére való képesség is.

Szabályozás és vezérlés. Az élő rendszerekben lezajló folyamatok nem összevisszaságban, hanem szabályozottan és vezérelten mennek végbe. E kettős kritérium az élő rendszerek organizációjának a következménye. A természetben számos dinamikus rendszer működik szabályozott módon. Önmagában a folyamatok szabályozott végbemenetele tehát még nem jellemző az élő rendszerekre. Programvezérelt folyamatok a technikában gyakoriak, de a természetben csak az élővilág rendszereiben lehettek fel, megfelelően annak, hogy a programvezérlés mindig valamilyen program, tehát valamilyen információ alapján történik, és hogy információs műveletek a szabad természetben csak az élővilágban találhatók. E programok az élővilágban lehetnek genetikailag és tanulás által meghatározottak. A szabályozás és vezérlés a klasszikus kritériumok között nem szerepel, mert ennek részleteit csak a molekuláris biológia fedezte fel.

Homeosztázis. Talán CLAUDE BERNARD volt az első, aki kifejtette, hogy az élőlénynek létezik ún. „belső környezete”, amely állapotában és összetételében eltér a külső környezettől és amelynek az állapotát az élőlény próbálja változatlanul tartani. CANNON a belső környezetnek ezt az egyensúlyszerű állapotát homeosztázisnak nevezte el. A homeosztázis fogalmát ASHBY átvitte kibernetikai rendszerekre, megfogalmazta azok kibernetikai kritériumait és elméletben felállította a kibernetikai homeosztát fogalmát [1]. A biológiai és kibernetikai homeosztázis azonban nem azonos fogalmak. Ehhez járul, hogy ugyanerre az álláspontra gyakran használják az egyensúly, a dinamikus egyensúly kifejezéseket és különösen az utóbbi időben, nem-egyensúlyi termodinamikai munkákban ezt az állapotot azonosítják a stacionárius vagy steady state állapotokkal. Mindezekből a biológiai irodalomban igen nagy zűrzavar keletkezett, ami szükségessé teszi, hogy e helyen igen röviden bár, de tisztázzuk e fogalmak értelmét és érvényességi határait.

Egyensúly a zárt (izolált) rendszerek stabil állapota. Termodinamikai rendszerek esetén a zárt rendszer egyensúlya a termodinamikai állapothatározók szélső értékeivel, például az entrópia maximumával vagy a szabadentalpia minimumával jellemezhető. Minthogy zárt termodinamikai rendszer a valóságban nem létezik, így a termodinamika az egyensúly fogalmát tulajdonképpen kizárta a realitások világából.

Az élő rendszerek jellegzetesen nyílt rendszerek. A nyílt rendszerekre, mint ismeretes a termosztatika (klasszikus termodinamika) törvényei nem érvényesek. Ezért ONSAGER alapvető felismerései nyomán [19] PRIGOGINE [20] majd GYARMATI [9] kifejlesztették és általánosították a nem-egyensúlyi, azaz irreverzibilis rendszerekre vonatkozó termodinamikát. Ezekben a rendszerekben is létezik egy, az egyensúllyal analóg állapot, amelyben a rendszer paraméterei időben állandók, és amely akkor következik be, ha a rendszerbe belépő és onnan kilépő anyag- és energia-mennyiségek állandók és egymással egyenlők. A nyílt rendszereknek ezt az egyensúlyszerű állapotát stacionárius vagy steady state állapotnak nevezzük. Ezt az állapotot is lehet termodinamikai paraméterekkel jellemezni: stacionárius állapotban a rendszer entrópia produkciója minimumot, illetve szabadentalpia produkciója maximumot mutat.

A zárt rendszerek egyensúlyi állapotban, a nyílt rendszerek stacionárius állapotban stabilak. Minthogy az élő rendszerek nyílt rendszerek, az élő rendszerek stabilitását általában úgy fogják fel, mint azok stacionárius állapotát. Ez a felfogás azonban alapvetően helytelen. Stacionárius állapotban ugyanis a nyílt rendszer paraméterei időben változatlanok, legyenek azok akár intenzív, akár extenzív paraméterek. Az élő rendszerek viszont alapjukban növekedő, akkumulációs rendszerek, amelyekben a stacionárius állapot csak kivételesen és látszólagosan fordul elő. Az akkumuláció ugyanis definíciószerűen az extenzív paraméterek (anyagmennyiségtől függő paraméterek) állandó egyirányú változását, míg a stacionárius állapot ugyancsak definíciószerűen ezek változatlan értéken maradását jelenti az idő függvényében. Ily módon a stacionárius állapotra kidolgozott irreverzibilis termodinamikai feltételek az élő rendszerek stabilitási vizsgálatára nem alkalmazhatók. ASHBY a kibernetikai rendszerek stabilitására ún. kibernetikai stabilitási kritériumot dolgozott ki [1]. Eszerint egy kibernetikai rendszer akkor tekinthető stabilnak, ha a rendszerben a változásra képes csoportok a transzformációval

szemben zártak, vagyis ha a transzformációk sorozata nem hozhat létre új állapotokat. Ez a megfogalmazás valóban alapját képezi a biológiai rendszerek stabilitásának és homeosztázisának, ámbár nem azonosítható azzal [8]. Különösen nem tekinthető az ASHBY által konstruált kibernetikai homeosztát az élő rendszerek homeosztatikus tulajdonsága analógiájának, mert a kibernetikai homeosztátban akkumulációs folyamat egyáltalán nem szerepel. A homeosztázis pedig az akkumulációs rendszerek stabilitását is magában foglalja. Az akkumulációs rendszerek stabilitásának részletesebb kifejtése [8]-ban található meg.

Az élő rendszerek növekvő és szaporodó rendszerek, amelyek növekedésük és szaporodásuk közben is megtartják stabilitásukat, belső környezetük homeosztatikus állapotát. Ez a tulajdonság minden élő rendszer teljesen általános tulajdonsága és így általános életjelenségnek tekinthető.

Érzékenység (ingerlékenység). Szerepel a klasszikus életkritériumok között, eredetileg az állatvilág idegrendszeri tevékenységének makroszkopikus megnyilvánulásait értették alatta. Csak később vonták be ebbe a növényeknél található tropizmusokat és még később a makroszkopikusan esetleg meg sem nyilvánuló, mikroszkopikusan vagy csak biokémiai, biofizikai módszerekkel kimutatható jelenségeket. Az érzékenység teljesen nélkülözhetetlen és általános jelenség az élővilágban.

Az élő rendszerek belső környezetének fenntartása, vagyis a homeosztázis azonban nem valósulhat meg másként, mint a külső környezetben bekövetkezett változások érzékelése és az azokra adott kompenzáló jellegű aktív válaszok révén. Az érzékenység tehát nem más, mint a homeosztázis megvalósulásának a módja, annak mechanizmusa. Ezért, ha a homeosztázist, mint általánosabb érvényességi körű jelenséget az életjelenségek közé soroljuk, úgy az érzékenység feltüntetése redundancia, mert azt a homeosztázis-fogalom eleve tartalmazza.

Öröklődés. Öröklődésen azt értjük, hogy az élő rendszerek képesek saját magukkal azonos vagy magukhoz hasonló egyedek létrehozására, vagy ilyenek létrejöttét biztosító kezdemények produkálására. A szaporodás fogalma azonban inkluzíve az öröklődést is magába foglalja. Ha tehát a szaporodást életjelenségnek tekintjük, úgy az öröklődés mint életjelenség számbavétele ugyancsak redundancia.

Öröklődő változékonyság és evolúcióképesség. Ha az öröklődés szigorú lenne, vagyis az utód tulajdonságai minden esetben azonosak lennének a szülők tulajdonságaival (vagy a szülők tulajdonságainak kombinációival), akkor nem fejlődhetett volna ki az élővilág, hiszen új változatok megjelenése nem volna lehetséges. Ezért külön életjelenségként célszerű tekinteni a változás öröklődő képességét, vagyis azt, hogy egy utódban olyan tulajdonságok is megjelenhetnek, amely az elődök sorozatának végtelen láncolatában sehol sem voltak találhatóak.

Az evolúció előfeltétele volt tehát az öröklődő változások megjelenésének a lehetősége. Ez a tulajdonság az élővilágban általánosan fellelhető, de természetesen az egyedi életre vonatkozóan éppen úgy nem tekinthető kritériumnak, mint a növekedés vagy szaporodás.

Alkalmazkodóképesség. Az élővilág egyedei gyakorlatilag minden olyan környezetben megtalálhatók, ahol a víz folyékony halmazállapota megvalósulhat és ahol a redox viszonyok ezt lehetővé teszik. A kékalgák (legalábbis egyes fajok) 95 °C-on még szaporodóképesek és találtak 98 °C-os hévforrásban is élő kékalgát. Teljes sötétségben, valamint erős napfényben képesek megélni az élőlények, sőt HORTOBÁGYI kimutatta, hogy a csillebérci atomreaktor primer hűtőkörében, ioncserélt vízben, teljes sötétségben, de az emberre elviselhetetlen sugárszintet százezerszeresen meghaladó radioaktív sugárzás mellett egy kékalga (*Romenia gracilis*) szaporodott el, a szekunder hűtőkörben, ahol még szintén intenzív a sugárzás, további két alga- és egy baktériumfaj jelent meg [11, 12]. Az élővilág tehát szinte minden elképzelhető körülményhez alkalmazkodni tud. Az egyes fajok alkalmazkodóképessége természetesen korántsem ilyen széles, de az alkalmazkodóképesség minden élő rendszernek nélkülözhetetlen sajátossága. Ha a homeosztázist életkritériumnak tekintjük, akkor viszont az alkalmazkodóképességet már nem sorolhatjuk külön az életjelenségek közé, mert a homeosztázis fogalmában lényegében az alkalmazkodóképesség is benne van.

Regenerálódás. Feltételezhető, hogy az élő rendszereknek általános tulajdonsága. Az előzőekben említettük HARTMANN amóba-operációit, amelyben az amóba protoplazmájának az operációval eltávolított egyharmadát egymásután hatvanötször képes volt regenerálni. A *Stentor* $1/70$ része még regenerálódhat, ha magot tartalmaz. A hidráknak, örvényférgeknek az $1/100$ része még képes teljes állattá kiegészülni. Az ízeltlábúaknál regenerálódást alig lehet megfigyelni, ez feltételezhetően arra vezethető vissza, hogy a kitin-páncél lényegében élettelen anyag. A puhatestűeknél a tapogatók és fogókarok képesek ismét kinőni, a tüskésbőrűek esetében a levágott kar is képes regenerálni a középső részt. A kétélűeknél a fark és a végtagok ismételten is regenerálódhatnak, a halak, madarak, emlősök körében a regeneráló-képesség igen kicsi [13]. De itt sem hiányzik, hiszen a sebgyógyulás is regenerálóképesség eredménye. A növények esetében a regenerálódás mértéke rendkívül nagyfokú, általános és a gyakorlati élet által régen hasznosított: a dugványozási, gyökerzetési módszerek a nagyfokú regenerálóképészen alapulnak. A prokarióták regenerálóképességéről gyakorlatilag semmit sem tudunk, ezért bár a regenerálódás valószínűleg általános tulajdonsága az élő rendszereknek, e tulajdonságot nem fogjuk az életkritériumok közé sorolni.

Szexualitás. Az eukarióták és soksejtűek körében a szexualitás általános jelenség. A prokarióták esetében is észlelhetők olyan jelenségek, amelyeket szexuális jellegű folyamatnak szokás tekinteni, ez azonban egyrészt nem terjed ki a genom egészére, másrészt nem meiotikus folyamaton keresztül zajlik, ami genetikailag meghatározó fontosságú az evolúció szempontjából, így a kétféle „szexualitás” nem tekinthető azonosnak. Emellett a prokariótáknak még e szexuális jellegű folyamata sem általános, vagy legalábbis nem általánosan bizonyított, így a szexuális szaporodás képessége sem tekinthető az élő rendszerekre általánosan jellemző tulajdonságnak.

Egyedfejlődés (ontogenezis). Egyedfejlődés alatt elsősorban a soksejtű organizmusoknak a genetikai állományba programozott individuális fejlődését értjük. Időben szekvenciális, egyirányú, irreverzibilis eseménysorozat ez,

amely az elején, az embrionális korszakban a HAECKEL-féle biogenetikai alaptörvény értelmében nagyjából végigmegy a törzsfajlás egyes fokozatain. Az embrionális állapot után, különösen a fejlődési szakaszban még igen jól elkülöníthetők az időben egymás után bekövetkező események. Az egész eseménysorozat a megtermékenyítésnél indul és a halálig tart. Az egyedfejlődés vezérelt folyamat, amelyben az egyes események bekövetkezésének sorrendje és ideje valószínűleg a genetikai állományban van kódolva.

A sejtek esetében nem, vagy legalábbis nem általánosan szokás egyedfejlődésről beszélni. De a sejtek esetében is létezik olyan időben szekvenciális, egyirányú, megfordíthatatlan eseménysorozat, amelyen a sejt az élete során egyszer halad végig. Ez az eseménysorozat azonban zárt kört alkot. Általában négy szakaszt különböztetnek meg, az M a mitózis szakasza, amelyben a sejtosztódás mikroszkóppal látható morfológiai eseményei zajlanak, a G₁ fázist, amely ezután következik, nyugalmi szakasznak szokták tekinteni, de kimutatható, hogy itt is vannak olyan események, amelyek időben szekvenciálisan követik egymást (például egyes enzimek szintézisének beindulása és leállása). Ezt követi az S-sel jelölt szakasz, amelyben a DNS szintézise folyik és végül a sort a G₂-vel jelölt szakasz zárja, amely biokémiai felkészíti a sejtet a morfológiai osztódásra [18]. A sejtek esetében is van tehát egyedfejlődési eseménysorozat. Ez az eseménysorozat azonban lényegében azonos a sejt növekedési és szaporodási folyamatával, és így nem kell külön kritériumként tárgyalni.

Halál. Gyakran úgy tekintik, mint utolsó életjelenséget. Kétségtelenül jellemző az élő rendszerekre abban az értelemben, hogy élettelen rendszer nem halhat meg, csak él. Ez azonban nem mond többet, mint, hogy egymással kapcsolatos és egyidejűleg egymást kizáró fogalom párt alkot. Ugyanakkor a halál valóban nélkülözhetetlen az élővilág fennmaradása szempontjából, hiszen ez biztosítja a szerves anyag körforgását a természetben. Halál nélkül ma is csak azok az első őssejtek léteznének a Földön, amelyek először élték fel a bioszféra szerves anyag tartalmát. Megkülönböztethetünk erőszakos halált (ezzel nem foglalkozunk, hiszen ez csak a rendszer működésének a külső körülmények által történt végleges megszüntetését jelenti, ami nem biológiai specifikum), természetes halált és programozott halált.

Úgy tűnik, hogy a természetes halál az egysejtűek körében nem általános. A hasadással és mitózissal szaporodó sejtek esetében ugyanis az osztódásnál a DNS szemikonzervatív mechanizmussal osztódván a két utódsejtben úgy oszlik meg, hogy az egyes utódsejtek DNS molekuláinak az egyik szála az anyasejtből származik, míg a másik szál az újonnan szintetizálódott. A többi anyag a két sejt között statisztikusan oszlik meg és a két sejt statisztikusan egyenlő arányban tartalmazza az anyasejt eredeti anyagait és az újonnan szintetizálódott anyagokat. Így két egyformán fiatal sejt keletkezik, amelyből egyiket sem lehet anyasejtnek, illetve utódsejtnek tekinteni. E sejteknek, mint élő egyedeknek, individuumnoknak az élete tehát úgy szűnik meg az osztódás során, hogy nem marad vissza hulla. E sejtek tehát potenciálisan halhatatlanok, legalábbis nemzedékeik folytonossága tekintetében. WOODRUF 13 és fél éven keresztül *Paraméciumok* 8500 generációját kísérte figyelemmel, amelyek során ezek az említett módon, tehát lényegében holttest hátrahagyása nélkül osztódtak. Ez emberi viszonylatban 250 000 évnek felel meg [13].

Azon sejtek esetében, amelyek nem egyszerű hasadással vagy mitózissal, hanem sarjadzással, spóráképzéssel vagy egyéb módon osztódnak, a természetes halál is megjelenik. A sarjadzással szaporodó élesztőknél például jól el lehet különíteni az anyasejtet a leánysejtől, az anyasejt a sorozatos bimbóztatások során öregedési folyamaton megy keresztül, vakuolái megnőnek, protoplazmája szemcsés és erősen fénytörő lesz, alakja torzul és öt-nyolc osztódás után elpusztul. Ezért az élesztő tenyészetnek mintegy 15–20%-át holt sejtek teszik ki.

Ha a mitózissal vagy hasadással szaporodó sejteket szaporodásukban meggátolják, előbb-utóbb elpusztulnak. Kivételt képez, ha az osztódás meggátolása a plazma egy részének eltávolításával jár, mint HARTMANN említett amöbba-operációi esetén. Ilyenkor ugyanis az operáció során a sejtet mesterségesen egyedfejlődési programjának egy korábbi fázisába dobjuk vissza és így soha nem engedjük az osztódási stádiumig eljutni, anélkül azonban, hogy természetes szintetikus folyamatait leállásra kényszerítenénk.

A soksejtűek sejtjeinek szaporodása a soksejtű szervezet által szabályozott. A soksejtűeken belül az ivarsejteket termelő szövetek sejtjei folyamatosan osztódnak, holttest hátrahagyása nélkül. Ezek egyikének, másikának az élete — megtermékenyített petesejt formájában — az utódban folytatódik. Visszafelé vezetve ezt a vonalat, kiderül, hogy az első őssejtől a ma élő soksejtűek egyes egyedeiig a sejt sorozatok halál nélküli végtelen sorozata rendelkezhető. A sejteket tekintve tehát az első őssejtől a mai élőlények egyedeiig valóban létezik halhatatlanság [13].

Soksejtűek esetében a természetes halál általános, ami az egyedfejlődési programjuk nyitott voltából következik. Az állatok esetében a halál pillanatzerű eseménynek látszik, a növények esetében hosszabb időt igénybe vevő lassú folyamatnak. A soksejtűek életkora feltehetően a genetikai állományban programozott. Csak így magyarázható, hogy az ember 70–80 évet, a csimpánz csak 15–20 évet él, az egér 2–2,5 évet, a vele rokon denevér 17–19 évet [3, 21]. Közelítőleg, nagy általánosságban igaz, hogy a nagyobb testű állatok és növények életkora hosszabb, mint a kisebbeké, de ez a törvényszerűség nem szigorú, hiszen az oroszlán életkora 20–25 év, a varjúé pedig 100 év körüli [21].

Felmerül a kérdés, hogy a természetes halál, mint esemény ugyancsak programozva van-e az egyedfejlődés programsorozatában. Az életkorok között fajoként mutakozó eltérések erre látszanak utalni. Egyes esetekben a halál biztosan programozottnak látszik, némely rovarnál a szexuális szaporodást végző alak (imágó) táplálkozásképtelen. Számos állat- és növényfaj egyedei közvetlenül a megtermékenyített peték lerakása, illetve a termés kifejllesztése után elpusztulnak, de élettartamuk a szaporodási folyamat meggátolásával meghosszabbítható. Azt azonban, hogy a halál, mint esemény általában programozott, eddig nem lehetett alátámasztani.

A regenerálódás tárgyalásánál említettük, hogy egyes lények több darabra darabolva is teljes lénygé képesek regenerálódni. Különösen jól látszik ez a növényvilágban a dugványozásnál, ahol ez elvileg a végtelenségig folytatható elpusztulás nélkül. Az ivaros szaporodásra képtelen kultúr-növények fenntartása vegetatív szaporítási módokkal végső fokon a generációk halál nélküli sorozatának látszik. Ez azonban nem potenciális halhatatlanság, itt mindössze arról van szó, hogy a növényt vagy állatot a darabolással irreverzibilis fejlődési programjának egy korábbi szakaszára visszük vissza

mesterségesen, és az amőba operációjával analóg módon soha nem engedjük, hogy egyedfejlődési programjának végéhez érjen.

Az elmondottak alapján megállapítható, hogy a természetes halál nem általános tulajdonsága az élőlényeknek, de teljesen általános tulajdonsága az élővilágnak, élővilág halál nélkül nem létezne.

Az életfogalom fejlődésének áttekintése

Az ókortól a XIX. századig a mozgást és a szaporodást tekintették olyan tulajdonságnak, amely az élőlényekre jellemző. A mikroszkopikus élőlények felfedezése során LEEUWENHOEK a mozgást használta egyetlen kritériumként annak eldöntésére, hogy a mikroszkóppal látható apró testek élők-e vagy sem. A vírusok felfedezésével, majd különösen azok kristályosításával az élő-élettelen vita ismét fellángolt. Az egyetlen életjelenség, amit a vírusoknál ki tudtak mutatni, a szaporodás volt. A molekuláris biológiai vizsgálatok azután bebizonyították, hogy a szaporodás képessége mellett az öröklődő változás képességével is rendelkeznek. Azonban az is bebizonyosodott, hogy a vírusoknak nincs anyagszeréje és tulajdonképpen nem ők szaporodnak, hanem a fertőzött sejt szaporítja őket.

ENGELS az életet a fehérjetestek létezési módjaként definiálta, amelyet a környezettel folytatott anyagszerével jellemzett [4]. ENGELSnek ez a definíciója igen széles körben ismert. Az utóbbi időben többször kétségbe vonták helyességét arra hivatkozva, hogy a nukleinsavaknak fontosabb szerepe van az élő rendszerekben, mint a fehérjéknek. Ez a kritika téves alapokon nyugszik. ENGELS az életdefinícióját 1885 körül írta, a mai értelemben vett fehérjefogalom pedig csak 1902 után, EMIL FISCHER munkássága nyomán alakult ki. ENGELS tehát semmi esetre sem érthette fehérje alatt azt a polipeptid láncokból felépült makromolekulát, amelyet a mai tudomány ért.

ENGELS viszont a „természet dialektikájá”-ban többször foglalkozik a fehérjefogalommal, amelyből világosan kiderül, hogy ő fehérje alatt azt a kolloid állapotban levő anyagi rendszert értette, amelynek belső összetételét és mechanizmusait természetesen nem tudta megadni, de amelyről ki mondta, hogy ingerlékenységre, növekedésre, összehúzódásra stb. képes, vagyis körülbelül azt a komplex rendszert, amelyet ma protoplazma néven foglalnánk össze. Ilyen értelemben ENGELS életmeghatározása ma is helytálló, és valóban az anyagsere az, amely az élő állapotot a legjobban és legáltalánosabban jellemzi.

Elsősorban ENGELS életdefiníciójának téves értelmezése során terjedt el az élő anyag kifejezés és annak téves értelmezése. Néhány évtizeddel ezelőtt például még általános volt a hiedelem, hogy ha egyszer sikerül fehérjét előállítani, azzal egyszerre az életet is szintetizálják. A nukleinsavak szerepének megismerése és e szerep eltűlésének a következménye, hogy sokan a DNS-t azonosították az élő anyaggal. Közvetten ma is ezt teszik mindazok, akik a vírust élőlénynek tekintik.

Már az ókorban is feltűnt, hogy az élőlények egyik legszembeötlőbb tulajdonsága az örökös változás, fejlődés, mozgás. Így számos tudós, többek között PLATON, LEIBNITZ, BICHAT, CUVIER stb. ezt tekintette az élet lényegének. Más tudósoknak ennek épp az ellentéte tűnt fel, azaz az élőlények stabilitása. Ez megmutatkozik például a homeosztázisban, de megmutatkozik a nemzedékek azonosságában, az öröklődésben is. Az élet jellemzőjeként ezt emelte ki többek között CLAUDE BERNARD, HUZELLA TIVADAR vagy SCHROEDINGER.

A kvantummechanika fejlődésének fénykorában elsősorban fizikusok alakították ki azt a véleményt, hogy az élő rendszerek mibenlétét, „titkát” csak kvantummechanikai szinten lehet megoldani. Ezt az álláspontot képviselte többek között SCHROEDINGER, JOHN BERNAL vagy NIELS BOHR, és ezt az álláspontot képviseli napjainkban is SZENT-GYÖRGYI ALBERT, bár kissé más értelemben.

Elsősorban az élővilág és az egyes élő egyedek működésének alaposabb és mélyebb megismerése tette lehetővé, hogy számos tudós felismerje: az élőlények különleges volta és speciális tulajdonságai elsősorban nem anyagukból, hanem speciális szerveződési módjukból, organizációs tulajdonságaikból következnek. Ezt hangoztatta LOEB már 1907-ben, majd HALDANE, de különösen LUDWIG VON BERTALANFFY.

A továbbiakban VARRÓ RÓZSA definíciói alapján [22] az élőben található közös jellemzőket életkritériumoknak fogjuk nevezni, azokat a törvényeket, amelyek ezen jellegzetességeket egyetlen egységbe foglalják az élet princípiumának tekintjük és az életet magát, mint minden élő közös, általános absztrakcióját már nem biológiai, hanem filozófiai kategóriaként fogadjuk el.

Az életkritériumok

Az élet összetett folyamat, amely sajátos anyagi rendszerekben található. Az élet tehát nem valamely speciális vegyületnek, például nukleinsavnak vagy fehérjének a tulajdonsága, hanem valamely speciális vegyületekből felépült rendszernek. Ezért helytelen élő anyagról beszélni, hanem sokkal helyesebb élő anyagi rendszert említeni. *Egy rendszer akkor és csak akkor élő, ha benne sajátos módon összetett folyamatok (életfolyamatok) mennek végbe.* Ezek a folyamatok különleges jelenségeket eredményeznek, amelyek alkalmasak arra, hogy az élő a nem élőtlől elkülönítsék.

Egy rendszer, amely alkalmas arra, hogy benne a kérdéses folyamatok végbemenjenek, lehet működő és lehet nem működő, de működőképes állapotban. Az a rendszer, amely alkalmas arra, hogy benne életfolyamatok menjenek végbe, működő állapotában élő, nem működő, de működőképes állapotában viszont nem élő, csak *életképes*. Ez utóbbi állapot felel meg a latens életnek, a klinikai halálnak, a nyugalomba jutott magvak állapotának, a beszárított mikroorganizmusoknak, fagyasztott szervezeteknek. Ez az állapot nem élő, de nem is holt állapot.

A halál irreverzibilis változás, amely a rendszert visszafordíthatatlanul működésképtelenné teszi. Következésképpen az élet megfelel e speciális rendszerek működő állapotának, a halál pedig a működésképtelen állapotnak. De létezik egy közbenső állapot is ezeken kívül, a funkcióképes, de nem funkcionáló állapot, azaz az életképes állapot, amelyben a rendszer nem él, mert sajátos folyamatok nem zajlanak le benne, de nem is holt, mert folyamatai bármikor megindulhatnak, ha a körülmények arra alkalmasak.

Az életfolyamatok különböző speciális jelenségeket eredményeznek, amelyek általánosan alkalmasak az élő állapot jellemzésére. Ezek között vannak olyanok, amelyek kivétel nélkül *minden élőlényben, életének minden időpillanatában* megtalálhatók, tehát amelynek állandó és együttes jelenléte nélkül a rendszer nem él. Ezek együttes jelenléte nélkülözhetetlen kritériuma az élő állapotnak, ezért ezeket *reális (abszolút) életkritériumoknak* fogjuk nevezni. Van az életjelenségeknek egy olyan csoportja, amelyek nem szük-

séges kritériumai az egyes egyedek élő állapotának, de amelyek az *élővilág fennmaradása és fejlődése szempontjából nélkülözhetetlenek*. Ezeket is életkritériumoknak tekintjük, de az előzőektől eltérően nem reális (abszolút), hanem *potenciális életkritériumoknak* nevezzük őket.

A reális (abszolút) életkritériumok a következők:

1. Az élő rendszernek inherens módon egységnek kell lennie.

Egy rendszert akkor tekintünk egységnek (egésznek), ha tulajdonságai nem tehetők össze addíció segítségével részeinek tulajdonságaiból és ha az egész nem osztható úgy részekre, hogy a részek hordozzák az egész tulajdonságait.

Az egységet képező rendszer (egységrendszer) nem elemeinek egyszerű uniója, hanem egy új egység, amely részeinek tulajdonságaihoz képest új minőségi tulajdonságokat hordoz. Ezek az új minőségi tulajdonságok a rendszer elemeinek a rendszer organizációja szerint történő kölcsönhatásai révén vannak meghatározva. Csak a rendszer, mint egész rendelkezik ezeknek a tulajdonságoknak a totalitásával.

A biológiai rendszerek inherens módon, azaz belső lényegükből fakadóan képeznek egységet. A biológiai rendszerek tehát egységrendszerek, az élet mindig egy egységrendszer tulajdonsága. Az az állítás, hogy e rendszerek inherens módon egységesek, nem mond ellent annak a ténynek, hogy a rendszernek lehetnek járulékos részei. A járulékos részek funkcionális kapcsolatban lehetnek a rendszerrel, de eltávolításuk nem szünteti meg a rendszer egység voltát.

Mivel a biológiai rendszerek konstrukcionálisan és funkcionálisan egyaránt genetikailag meghatározottak, következésképpen a rendszer biológiai egysége is genetikailag meghatározott, vagy fordítva, a genetikai előírat mindig tartalmaz információt az élő egységre vonatkozóan. Az élő rendszerek egységét azonban végső soron az határozza meg, hogy bennük a folyamatok egységes program által vezérelten mennek végbe.

2. Az élő rendszernek anyagcserét kell folytatnia.

Anyagcserén azt értjük, hogy a külső környezetből anyag és energia jut aktív vagy passzív módon a rendszerbe, ott ezeket a rendszer kémiai úton saját belső anyagaivá alakítja át melléktermékek keletkezése közben, a kémiai reakciók a belső anyagok szabályozott és vezérelt növekedését, valamint a rendszer energiaellátását eredményezik, végül a hulladékanyagok aktív vagy passzív módon elhagyják a rendszert.

Meg kell jegyezni, hogy a „külső” és „belső” kifejezések itt sem a térbeli elkülönítésre vonatkoznak, hanem arra, hogy az anyag szerves része-e az élő rendszer, mint egységrendszer belső hierarchiájának. Tartalék tápanyagok, mint a glikogén vagy a keményítő akkor is külső anyagoknak számítanak, ha térbelileg az élő rendszeren belül helyezkednek el.

3. Az élő rendszernek inherensen stabilnak kell lennie.

Az inherens stabilitás sem az egyensúllyal, sem pedig a stacionárius állapottal nem azonos. Jelenti a rendszer belső folyamatainak olyan speciális

organizációs módját, amely lehetővé teszi, hogy a rendszer folyamatos működése, továbbá a külső környezet változásainak ellenére is állandó marad. Azt jelenti, hogy noha a külső paraméterek változása által okozott, az élő rendszeren belül bekövetkezendő dinamikus változások révén a rendszer állandóan válaszol a külső hatásokra, mint egész mindig ugyanaz marad. Azt is jelenti, hogy az élő rendszerben végbemenő állandó kémiai állapotok ellenére a rendszer maga nem bomlik le, sőt növekszik, ha szükséges.

Ez az inherens stabilitás azonban a homeosztázissal sem azonos. Több annál, mert a homeosztázis már belőle következik. Az inherens stabilitás konstrukcionális tulajdonság, amely az élő rendszerekben végbemenő elemi kémiai és fizikai folyamatok, valamint a lehetséges kémiai állapotok network-jének következménye. A nyugvó mag, a fagyott szövettenyészet, a liofilizált mikroorganizmus, vagy a beszáradt protozoa egyáltalán nincs sem homeosztázisban, sem pedig steady state állapotban, noha mindegyik rendelkezik az inherens stabilitás kritériumával, ami abban nyilvánul meg, hogy megfelelő körülmények között ismét élővé válnak. Az inherens stabilitással rendelkező rendszer tehát csak működése közben mutat homeosztatikusságot, így ez a kritérium magában foglalja a homeosztázis kritériumát is.

Az inherens stabilitással rendelkező élő rendszer tehát életképes, de nem élő állapotba vihető, ekkor nem mutat homeosztatikusságot, majd innen megfelelő körülmények között ismét életre kelthető és ekkor egyúttal homeosztatikussá válik. Mint már volt róla szó, a homeosztatikusságot az érzékenység (ingerlékenység) és az alkalmazkodóképesség kritériumait is kielégíti.

4. *Az élő rendszernek olyan alrendszerrel kell rendelkeznie, amely a teljes rendszer számára hordoz hasznosítható információkat.*

E kritériummal kapcsolatos tudnivalókat az életjelenségek tárgyalásánál kifejtettük.

5. *Az élő rendszerekben végbemenő folyamatoknak szabályozottnak és programvezérelteknek kell lenniük.*

Minden dinamikus, azaz folyamatosan működő rendszer létének feltétele folyamatainak szabályozottsága. Az élő rendszerek, mint dinamikus lágy rendszerek természetesen ugyancsak rendelkeznek ezzel a tulajdonsággal, és a szabályozás itt kémiai mechanizmusokon keresztül valósul meg. A szabályozás azonban csak a rendszer létének fenntartását biztosítja és önmagában nem teszi lehetővé egyirányú folyamatok lejátszódását. A növekedés, a szaporodás, az egyedfejlődés és a törzsfjlődés csak programvezérlésen keresztül valósulhat meg, amely vezérlés az információs alrendszerben tárolt információk, programok szerint megy végbe.

A potenciális életkritériumok a következők:

6. *Növekedés — szaporodás.*

7. *Öröklődő változások képessége és evolúcióképesség.*

8. Halandóság.

E potenciális életkritériumokat az életjelenségekkel kapcsolatban már részleteztük. Halandóság alatt nem a programozott halált, hanem a rendszer elpusztíthatóságát értjük, amelynek segítségével anyaga visszakerül a bioszféra szerves anyag körforgásába.

Az élő rendszer definíciója

A felsorolt kritériumok a hely- vagy helyzetváltoztató mozgás kivételével az összes klasszikus életjelenséget magukba foglalják, de szigorúbb és jobban definiált formában. Ezen túlmenően további olyan kritériumokat is tartalmaznak, amelyek általános életkritérium jellege csak a molekuláris biológia eredményeinek ismeretében derül ki. Ilyenek például: az információátviteli képesség, vagy a folyamatok szabályozott és programvezérelt volta. Ezek szerint a felsorolt életkritériumok sokkal szigorúbb megkötelezéseket tartalmaznak egy rendszer élő voltával kapcsolatban, mint a klasszikus életkritériumok.

Mivel a potenciális életkritériumok nem képezik az egyedi élet előfeltételét, így minden rendszert élőnek kell tekintenünk, amelyek a reális (abszolút) életkritériumokat kielégíti, függetlenül a rendszer konkrét anyagi felépítésétől, vagy a rendszert alkotó anyagok kémiai minőségétől.

Ez a definíció lehetőséget teremt arra, hogy az élet alaptörvényeit teljes általánosságban tárgyalhassuk, függetlenül azok konkrét megvalósulási formáitól. Ez a definíció tehát nem kötődik a fehérjékhez, nukleinsavakhoz, de még a szénvegyületekhez sem, és ha az exobiológia nem szénalapú élő rendszereket fedezne fel a jövőben, a definíció alapján azok is tárgyalhatók lennének.

Az élet kétféle szintje

Az alapvető biológiai kategóriákkal kapcsolatos zavarok főként az élő szervezetek hierarchikus rendjének elhanyagolásából származnak. Ez a biológiai munkákban általánosságban előfordul még olyan szerzők munkájában is, mint BERTALANFFY, aki éppen organizmikus koncepciójával oldotta fel az ellentmondást a sejtelmélet és a holisztikus biológia között [2].

Világosan kell látni azonban, hogy az életnek legalább két különböző szintje létezik, amelyeket elsődleges és másodlagos életnek (primer és szekunder élet) nevezhetünk, és amelyeket első közelítésben azonosnak vehetünk a sejtek életével, illetve a soksejtű szervezetek életével. A kétféle élet megjelenése a földtörténet során is jól elkülöníthető. A primer élet mintegy három és fél milliárd évvel ezelőtt jelent meg, majd ezekből a primeren élő rendszerekből mint elemekből több, mint egymilliárd évvel ezelőtt olyan, a szerveződés magasabb szintjén levő egységrendszerek alakultak ki, amely egységrendszerek, mint egységrendszerek is rendelkeztek azzal a tulajdonsággal, hogy éltek.

A kétfajta élet nem azonos. Egy soksejtű organizmus elpusztulhat anélkül, hogy sejtjei meghalának, hasonlóképpen, mint ahogy egy molekula szétbomolhat atomjainak szétbomlása nélkül. Mégis egy molekula nem az atomok rendszertelen halmazára, hanem egységes egész, az atomok halmazához képest olyan minőségileg új tulajdonságokkal, amely tulajdonságok nem az atomok tulajdonságainak összegei, hanem azok szerveződési módjának követke-

ményei. A molekulán belül az egyes atomok nem mint különálló atomok halmazai viselkednek, hanem mint a molekula részei. Hasonlóképpen tudnak a sejtek egységes egészzé, egységrendszeré, soksejtű organizmussá szerveződni, amely nem mint a sejtek halmaza viselkedik, hanem mint egy egységes egész, mint egy organizmus. Természetesen a sejtek belső organizációs törvényei a szervezeten belül is érvényesek maradnak.

Él tehát a sejt, és él az organizmus, amely ezekből felépült egységrendszer. Nem él azonban például az úgynevezett túlélő békaszív, mint szív. A túlélő békaszívnek csak az egyes sejtjei élnek. Mindazok az életjelenségek, amelyeket a túlélő békaszív vagy bármely túlélő szerv vagy szövet mutat, az őket alkotó sejtek életjelenségeinek összegeződéséből származnak. Az élet mindig egy egységrendszer tulajdonsága és ez az egységrendszer tulajdonságaiban és organizációs módjában genetikailag meghatározott. Nincs külön szívre, májra, tüdőre, vagy vesére jellemző élet. Ugyanakkor azt sem lehet állítani, hogy egy szövet az egyszerűen csak a sejtek rendszertelen halmaza lenne. Ezért a szövetet vagy szervet úgy kell tekinteni, mint osztható rendszert, amelynek elemi egysége a sejt. Hasonló ez ahhoz, amit a kristálytanban tapasztalunk: az elemi cella mint egységrendszer magában hordja a makroszkopikus kristály minden tulajdonságát, és ezek a tulajdonságok a makroszkopikus rendszerben felerősítve, sőt módosítva jelennek meg. De a makroszkopikus rendszernek nincsenek új, egységrendszerre jellemző tulajdonságai az elemi egységrendszer tulajdonságaihoz képest. Egyetlen szívsejt is dobogni képes, egyetlen májsejt is rendelkezik azokkal az anyagcsere funkciókkal, amelyek a májnak a sajátosságai és a szív, máj ezeknek a tulajdonságoknak a felerősített és esetleg módosított eredőjét mutatja makroszkopikus tulajdonságként. Élő egységrendszer tehát a sejt és a szervezet, a közöttte levő szintek csak osztható rendszerek, külön sajátos minőség, külön élet nélkül.

A biológiai organizáció e két különböző szintjének speciális sajátosságait ugyanazzal a szóval jellemezzük: élet, mivel mindkét szint egységrendszereinek vannak alapvető közös és jellemző tulajdonságai. Amikor az életkritériumokat kerestük, akkor azokat a kritériumokat válogattuk ki, amelyek mindkét szint egységeire, de csakis azokra jellemzők. A kritériumoknak tehát általánosan érvényesnek kell lenniük az egyes sejtekre és az egyes organizmusokra egyaránt. De nem szabad elfelejteni, hogy az első szint egységrendszerei egyúttal a második szint rendszereinek elemeit, építő egységeit képezik.

A kétféle szint tulajdonságainak közös jellemzői nem jelentik szükségszerűen azt, hogy a két szint rendszereinek szerveződési módja is azonos. Ezért nem lehet az élő rendszerek szerveződési törvényeit *általánosságban* kutatni, pedig ezt a hibát szinte minden kutató elkövette, aki e problémákkal foglalkozott. Külön szükséges megkeresni a primer életre jellemző organizációs törvényeket és külön a szekunder élet szerveződési törvényeit.

Köszönetnyilvánítás

Köszönetemet kell kifejeznem DR. VIDA GÁBOR egyetemi tanárnak számos kérdéssel kapcsolatos értékes tanácsaiért és a témában folytatott gyümölcsöző diszkusszióért.

IRODALOM

1. ASHBY, R. W. (1972) *Bevezetés a kibernetikába*. Akadémiai Kiadó, Budapest.
2. BERTALANFFY, L. (1952) *Problems of Life. An Evaluation of Modern Biological Thought*. Watts, London.
3. BEREGI, E. (1974) Az öregedés biológiája. In: CSABA, Gy. (ed.): *A biológia aktuális problémái*. I. köt. Medicina, Budapest. 171–207.
4. ENGELS, F. (1963) *Eugen Dühring úr tudományforradalmasítása. A természet dialektikája*. Kossuth, Budapest.
5. GÁNTI, T. (1971) *Az élet princípiuma*. Gondolat, Budapest.
6. GÁNTI, T. (1975) A szerves evolúció az organizációs hierarchia tükrében. *Fizikai Szemle* **25**, 465–471.
7. GÁNTI, T. (1978) *A Theory of Biochemical Supersystems and its Application to the Natural and Artificial Biosynthesis*. Akadémiai Kiadó, Budapest.
8. GÁNTI, T. (1978) Molekuláris szuperrendszerek önszabályozása és önszerveződése. In: CSABA, Gy. (ed.): *Biológiai szabályozás*. Medicina, Budapest.
9. GYARMATI, I. (1970) *Nonequilibrium Thermodynamics*. Springer, Heidelberg.
10. HARTMANN, M. (1953) *Allgemeine Biologie*. Gustav Fisher Verlag, Stuttgart.
11. HORTOBÁGYI, T. and VIGASSY, J. (1966) Mikroszervezetek a csillebérci atomreaktor sugárzásoknak kitett vízkörében. *KFKI Közlemények* **14**, 235–243.
12. HORTOBÁGYI, T. and VIGASSY, J. (1967) Micro-organisms in the water circuits exposed to radiation of the nuclear reactor Budapest—Csillebérc. *Acta Biol. Hung.* **18**, 151–160.
13. HUZELLA, T. (1933) *Általános biológia*. Magyar Orvosi Könyvkiadó Társ., Budapest.
14. Különböző szerzők (1975) Symposium on the evolution of mitosis in eukaryotic micro-organisms. *Bio System* **7**, 295–386.
15. MARGULIS, L. (1970) *Origin of Eucaryotic Cells*. Yale University Press, New-Haven and London.
16. MARGULIS, L. (1975) The microbes contribution to evolution. *Bio Systems* **7**, 266–292.
17. MEGYERI, J., TÖRÖK, L. and WÉBER, M. (1954) *Allattan* I. köt. Tankönyvkiadó, Budapest.
18. MITCHINSON, J. M. (1971) *The Biology of the Cell Cycle*. Cambridge University Press, Cambridge.
19. ONSAGER, L. (1931) Reciprocal relations in irreversible processes I—II. *Phys. Rev.* **36**, 2265–2269 és **37**, 405–413.
20. PRIGOGINE, I. (1967) *Introduction to Thermodynamics of Irreversible Processes*. Interscience Publ., New York.
21. SZABÓ, I. (1932) *Élettartam és öregedés*. Novák R. és Tsa, Budapest.
22. VARRÓ, R. (1974) *Dialektika az élő természetben*. Kossuth, Budapest.

LIFE CRITERIA AND THE DEFINITION OF LIVING SYSTEMS

T. Gánti

Department of Genetics, Eötvös Loránd University, Budapest, Hungary

Axiomatic definition of fundamental concepts and laws is an absolute requirement for any science to be exact. The same is also true for biology. Therefore we need unambiguous criteria for the definition of life, in order to make possible a clear differentiation of living and non-living systems. The classical definitions of life criteria and some general properties of the living systems are critically surveyed. A new system of life criteria is proposed as a result of further improvement and refinement of the one published by the present writer in 1971.

According to the present conception there are two kinds of life criteria: 1. the real or absolute criteria (e.g. metabolism, inherent stability, etc.) and 2. the conditional life criteria (e.g. growth, mutation, death, etc.). The continuous and simultaneous presence of all absolute life criteria is unconditionally necessary for any individual system to be alive. The conditional life criteria are non-essential for the individual's life, while they are necessary to make possible the development and existence of the living world.

Accordingly, only the systems exhibiting all real (absolute) life criteria can be regarded as living.

EGY ÚJ, NAGYHIBATŰRÉSŰ HATÁROZÓRENDSZER: A DPS

LADUNGA ISTVÁN

Országos Tervhivatal Koordinációs és Tudományos Titkárság, Budapest

Beérkezett: 1977. szeptember 29-én

Kulcsszavak: nem politomikus határozás, polikláv, off-line határozás, kettős állapotadás

Bevezetés

Cikkemben két módszerrel próbálom levezetni az optimális határozók alapelveit és tulajdonságait. Először heurisztikusan az emberi felismerési folyamatok vizsgálatával, majd az absztrakt algebrai részben matematikai egzaktuságú módszerrel.

Bármennyire nyilvánvalónak látszik az első módszer, idáig nemcsak tudomást sem szereztek róla, hanem pl. a politomikus kulcsok algoritmusát kifejezetten ellentétes az agyban lejátszódó felismerési folyamatokkal.

Vegyünk egy példát: hogyan ismerjük fel rég nem látott ismerősünk arcát? Egy képet, mintát (pattern) próbálunk megfeleltetni más mintáknak. Nem külön az állat, külön a fület stb. vizsgáljuk, hanem egy *holisztikus képet*. Ezzel szemben pl. a politomikus határozók [5, 9—14, 16—21] egyetlen attributum* állapota** (pl. a fül nagy vagy kicsi) alapján kényszerítik döntésre a felhasználót az elágazást illetően. Ha csak egy-két attributumállapot nem egyezik a típusével, az az emberi felismerést nem akadályozza, de a politomikus határozásnál fatális tévedést okoz.

Az emberi tudatban a típus nem diszkrét állapotok, hanem többé-kevésbé tág *állapotintervallumok* halmazaként jelenik meg [14]. Ha az adott példány állapota a típusra jellemző állapotintervallum szélső értéke, az az emberi felismerést alig zavarja (természetesen túl sok szélső érték esetén már gátolt a felismerés — l. absztrakt algebrai rész). Továbbá: a típus nem egyetlen példány, hanem egy sokaság (faj, genus stb.) attributumállapotainak halmaza, s így előfordulhat, hogy egy-egy attributuma nem írható le egy-egy állapotintervallummal, hanem csak *több, alternatív állapotintervallummal* [15, 20, 29].

Gondoljuk, hogy egy idegen égitest lakóinak beszélünk az asztról általában: hogyan különböztessük meg más tárgytól? Alternatív állapotok nélkül ezt a feladatot nem lehetne megoldani: lehet, hogy dolgoznak rajta, lehet, hogy csak dísz tárgy; lehet, hogy alacsony, lehet, hogy magas stb. Mégis, amikor meglátjuk, a legszélsőségesebb esetektől eltekintve, azonnal felismerjük olyan *állapotok együttese* alapján, amely állapotok külön-külön nem lennének feltétlenül jellemzőek.

Ha egy attributum állapotát nem tudjuk észlelni, akkor az a felismerést még nem akadályozza, de a politomikus határozóknál az adott elágaztatásra

*, ** Lásd: Definíciók

vonatkozó döntést lehetetlenné teszi (ami főként a határozás elején komoly probléma).

A politomikus kulcs nem ad összehasonlításra alkalmas képet a határozóban felvett összes attributum alapján minden típusról, mert az elágaztatás (az első kivételével) általában más-más attributum alapján történik. Ebből nemcsak összehasonlíthatatlanság adódik, hanem az is, hogy az egyes attributumok megfigyelése csak az előző elágaztatásnál szereplő attributum megfigyelése után lehetséges, ugyanis addig azt sem tudjuk, hogy melyik lesz a következő attributum. Különösen hátrányos ez pl. a mikrobiológiában, ahol ezért a különböző táptalajokon nem lehet egy időben elvégezni a tenyésztési próbákat [7, 8, 15, 29]. Az emberi felismerés alapjelenségeinek vizsgálata megmutatja, hogy milyen irányba kell fejleszteni a határozás technikáját, és milyen követelményeket támaszthatunk vele szemben. Fentiekből kiderült, hogy a politomikus határozás elve ezzel az iránnyal ellentétes, az egyszerű követelményeket pedig nem elégíti ki. Ugyanezekre a következtetésekre juthatunk, ha a számítógépek lehetőségeihez hasonlítjuk a politomikus határozásait.

Sem a vizuális gondolkodás, sem a számítógép információhordozója nem beszélt nyelv, és nem is lehetne az. Ugyanis ami tudatunkban egyszerű képként, vagy a számítógép memóriájában még egyszerűbb kódként jelenik meg, annak a beszélt nyelvi leírása sokszor rendkívül bonyolult és ennek ellenére pontatlan. Beszélt nyelven alig lehetséges több attributum állapotai alapján szimultán vagy kváziszimultán határozni, tehát nem alakulhat ki holisztikus kép. Elkerülhetetlen tehát határozóinkban a kódolás.

Fontos megjegyezni, hogy a határozók éppúgy, mint a felismerési folyamat objektum-invariánsak, tehát műszaki hiba, közet, művészi stílus vagy biológiai rendszertani egységek elkülönítésére egyaránt alkalmasak.

Definíciók

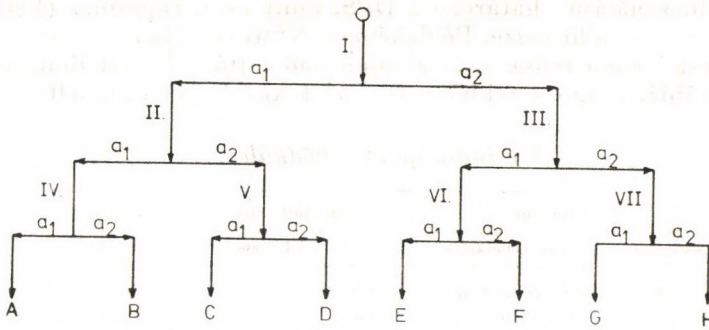
A politomikus (illetve dichotomikus) határozók irányított dendrogramok. Határozási elvük lényege az, hogy egy attributum állapotai alapján a felosztandó halmazt* (azt a megfelelő, általában fajfeletti taxont, ahová a határozni kívánt példány biztosan tartozik) részhalmazokra oszt, majd minden egyes részhalmazt egy-egy (nem szükségszerűen különböző) újabb attributum állapotai alapján újabb részhalmazokra oszt, s ezt az eljárást addig folytatja, amíg el nem jut a kívánt szintű taxonokig (fajokig, fajtákig). Ha egy-egy attributumnak csak két-két állapota lehetséges, akkor a határozót dichotomikusnak nevezik (1. ábra). A politomikus határozók egyetlen „előnye” egyszerűségük, ez azonban sokkal inkább hátrány (l. a bevezetést), mert nem tesz lehetővé nagy határfokú és hibátűrű munkát.

Az attributumok és állapotaik

Az attributum definícióját az irodalom kerüli**. JARDINE és SIBSON [14] inkább példával szemléltet: a párta színe attributum, amelynek állapotai fehér, sárga, piros stb. Szerintük, ha egy taxon adott attributuma csak egy állapotot vehet fel (például a rovarimágók lábainak száma csak hat lehet),

* Mivel az algebrai kifejezéseket használom, a halmaz a megfelelő itt, a csoport az algebraiban szűkebb fogalom.

** Az alapfogalmak elvileg sem definiálhatók.



I. ábra. A dichotomikus határozók folyamatábrája. Az I. attributum a_1 , illetve a_2 állapotai alapján két részhalmazhoz jutunk, majd a II., illetve III. attributum állapotai alapján a részhalmazokat újabb két-két részhalmazra bontjuk, s az eljárást addig folytatjuk, amíg eljutunk a megfelelő szintű taxonokig (fajokig, fajtáig, az ábrán A–H)

akkor *karakterről* beszélünk. Ezt a terminológiát nem mindenki fogadja el; a botanikusok és a mikrobiológusok nagy része [2, 7–13, 15, 18–21, 25] csak a karakter kifejezést használja, az embertanban pedig az attributum kifejezés kizárólagos. A magyar terminológiában a bélyeg és a tulajdonság kifejezéseket meglehetősen rendszertelenül használják, ezért kerültem ezeket.

Vektorok

Itt az egy taxonra vonatkozó attributumállapotok halmaza, azaz a taxon kódolt leírása a kódkulcsban felvett attributum állapotai alapján. Ha többszörös állapotadás fordul elő (l. alább), akkor a taxonleírás egy n -dimenziós részternek felel meg, de az egyszerűség kedvéért ezeket is vektoroknak nevezem. Egy-egy vektor megfelel az *adatmátrix* egy-egy sorának.

Adatmátrix

A vektorok (mint sorvektorok) elrendezését adatmátrixnak nevezi az irodalom [pl. 20], tehát ebben megtalálható az összes taxon összes attributum szerinti leírása. Ez képezi az alapját a minden taxont minden más taxonnal való összehasonlítás elvének (l. különbségtáblázat).

A DPS ismertetése

A fentiek figyelembevételével készítettem el 1972-ben a DPS (Difference-, Pairing-, Summarizing-tables; különbség-, párosító-, összegező-táblázatok) határozórendszerét. (Azért kapott angol nevet, mert a határozás elméletével inkább angolszász kutatók foglalkoztak.)

Gazdaságossági szempont, hogy ma egy határozót sokkal (nagyságrendekkel) olcsóbb számítógéppel elkészíttetni, mint emberi munkával [2, 3, 5, 20]. Azonban ezt a határozót számítógéppel használni kis szériák esetén nem gazdaságos [17–21, 25]. Ezért számítógép által elkészített, sornyomatóval

írt, „kézi felhasználású” határozó a DPS, amit kész, rugalmas (FORTRAN) számítógépprogram állít össze. Példaképpen NÉMETH MÁRTON „Borszólófajták határozókulcsa” című műve [22] alapján 258 fajtára 14 attributum alapján készítettem táblázatokat. Ezekből vett részletekkel fogom szemléltetni a DPS-t

A kiindulópont a kódkulcs:

Az attributum		Az adott attributum állapotainak	
sorszáma	mire vonatkozik	jelentése	kódja
I.	levélszórzet a fonákon	nincs	1
		van	2
II.	a karéjok száma	0 (ép vagy tagolatlan)	1
		2-5	2
		5-nél több	3
stb.			

Általában a kódértékek 1-től 9-ig terjedhetnek. Ha ezt az intervallumot nem használjuk ki, akkor *mindig* a legkisebb értékekkel kell dolgoznunk, akkor is, ha a konkrét fizikai jelentés logikailag mást indokolna: pl. a karéjok száma nagyobb 5-nél, kód: 3 és nem 5 vagy 6!

Míg MORSE [20] a következő kódszámokat használta:

- 0 = ismeretlen
- 1 = igaz vagy A
- 2 = változékony
- 3 = nem igaz vagy B
- 4 = használhatatlan (inapplicable)

szerintem: a) 0, 2 és 4 jelentését nem érdemes megkülönböztetni, mert hatásuk ugyanaz, ezért mindhárom 0-val kódoltam. b) Ahol kellett, többállapotos attributumokat is használtam, sőt, ez volt a jellemző.

A DPS újítása, hogy adott taxon adott attributumának nemcsak egy, hanem két állapotot is adhat — vagy egyet sem! Az eddigi határozók nagy hátránya, hogy (legalábbis alapelveikben) nem vették figyelembe az élő természet egyik legfontosabb tulajdonságát, a változékonyságot (itt taxonon belül), azonkívül az átmeneteket és a tévedéseket.

Adott taxon adott attributumának két állapotot úgy adunk, hogy a kisebb kódértékű állapot kerül a fővektorba*, a nagyobb kódértékű állapot pedig a kiegészítő vektorba**, a fővektor megfelelő eleme alá. Pl.:

Index***	kódok
29.	10021141122113
	00032000000000

* *Fővektor*: az adott taxonra vonatkozó attributumállapotok (attributumonként csak egy, ha a taxonnál alternatív állapotok vannak, akkor a fővektorban csak kisebb kódértékű szerepel) halmaza.

** *Kiegészítő vektor*: az a vektor, amiben a fővektorban szereplő attributumállapotok nagyobb kódértékű alternatívái szerepelnek.

*** *Index*: a DPS-ben körülményes lenne mindig kiírni a taxonok nevét, ezért indexszel hivatkozunk a taxonokra. Az indexelés növekvő számszámság szerint történik (l. alább).

A IV. attributum 2-es és 3-as állapotai *együtt* azt jelentik, hogy:

a) *vagy* csak a töve vörös, *vagy* az egész erzet vörös,

b) nem lehet egyértelműen megállapítani,

c) részben vörös (*átmenet*).

Egyes kulcsok az átmenetet külön állapotként veszik fel. Ez többnyire helytelen, hiszen az átmeneteket éppen a változékonyság jellemzi, tehát egy *többnyire* átmeneti tulajdonságot mutató taxon gyakran a tulajdonság *szélsőértékeit* veszi fel. Ha egy adott taxon adott attribútuma kettőnél több állapotot vehet fel (szélsőségesen variál), akkor nem adunk neki állapotot, s ezt a fővektorban 0-val jelezzük, pl. az előbbi (29) fajtánál a II. attributumnál a 0 azt jelenti, hogy

a) a karéjok száma változó,

b) a karéjok számát nem lehet biztosan megállapítani.

A kiegészítő vektorok nullái annyit jelentenek, hogy *nincs kiegészítő vektor-állapot* az adott attributumnál (ezeket nem szükséges kiírni).

Bár ezek a módszerek természetesen csökkentik a lenullázott vagy kiegészített attributum határfokát, ez mégsem számít, hiszen a DPS többi újítása (l. ott) miatt sok attributummal dolgozhatunk, és mégis áttekinthető marad a rendszer.

Hogy könnyebben találjunk meg egy vektort, a rendszertani vagy ábécé szerinti sorrend helyett a növekvő számnagyság szerinti csoportosítást alkalmazzuk. Szám alatt itt a fővektor állapotaiból összeolvasott számot értem, pl. 1,2,0,4 = ezerkétszáznégy. A kiegészítő vektoroknak ebből a szempontból nincs jelentőségük. Az indexelés is a fentiek szerint történik.

A kódolt információk mellé szöveges segédinformációkat is írhatunk minimális terjedelemben: az előfordulás helyét, az érés idejét, méreteket stb. [13].

A kódkulcs (és a nem különösen fontos segédinformációk) kivételével az egész határozó nem tartalmaz beszélt nyelvű szöveget, csak kódolt információkat. Ez nemcsak az információhordozó gazdaságosságát jelenti, hanem azt is, hogy pusztán a kódkulcs (néhány oldal) lefordításával nemzetközi használatra alkalmas rendszerhez jutunk, így célszerű a kódkulcsot magyar nyelvű szövegben is két nyelven (tehát pl. angolul is) megadni.

Ha néhány taxon a felvett ismérvek alapján nem különböztethető meg egymástól, akkor lábjegyzetben, hagyományos dichotomikus módszerrel szétválasztjuk őket, pl.:

7. 10011131122214

2

Sárféher és Sárpiros l. 1.

kiegészítő kulcs

Kiegészítő kulcsok: 1. Az éredő boggyó pontozott: Sárféher
mintázatlan: Sárpiros

Részlet az adatokból (*adatmátrix*):

A taxon indexe	Attributum állapotok	A taxon
107.	12011141122212 2	Fehér kadarka
108.	12011141133313 2	Cukorszőlő
109.	12011141223112	Jórizling

A különbségtáblázat

Foglalkozunk először a legegyszerűbb esettel: a példányról határozás-kor összeállított vektort a számnagyság alapján könnyen megtaláltuk az adatmátrixban. Ilyenkor az az alapvető probléma, hogy mivel téveszthettük össze? Erre a fontos kérdésre az eddigi határozók vagy egyáltalán nem adtak választ, vagy csak utaltak a leghasonlóbb csoportra. Itt következik a DPS lényegét jelentő táblázatok közül az adatmátrix után a legfontosabb, a *különbségtáblázat*. Ez megmutatja, hogy az adott vektortól mely vektorok különböznek *minimálisan* 0, 1, 2, 3, 4 állapotban.

Mindig minimális eltérésekkel dolgozunk: a nulla nem különbözhet semmitől, és ha a kiegészítő állapot egyezik a másik vektor megfelelő attributumának fő- vagy kiegészítő állapotával, akkor ezt úgy vesszük, mintha nem lenne az adott attributumnál különbség, pl.:

8.3012..... 2
9.4521.....

különbség 2 attributumnál

Részlet a különbségtáblázatból:

Annak a taxonnak az indexe, amivel az összes többit összehasonlítjuk: 191.

A különbségek száma: (d)	Indexek [amely taxonok a fenti (191) taxontól d attributumnál különböznek]:
1	3., 29., 84., 189.
2	22., 30., 32., 51., 59., 62., 66., 71. 73., 76., 77., 81., 182., 186., 188., 198.

Az egyszerűség kedvéért nem használtam súlyfaktorokat. Néha nulla különbséggel is kell dolgoznunk, mert ez minimális eltérést jelent, ezért előfordulhat, hogy két taxonnak csak egy közös állapotkombinációja van, de ezenkívül létezik (esetleg több) olyan állapotkombináció is, ami csak az egyik vagy a másik taxonnál fordulhat elő, pl.:

8.	10011131131134	Kecskeméti rizling
10.	10011131131113 2 34	Pozsonyi

Látszik, hogy a Pozsonyi V. attributumának állapota lehet 2, de a Kecskeméti rizlingé csak 1. Ezért, bár a két vektor minimális különbsége 0, mégis helytelen lenne egy vektorban leírni a két fajtát, mert a Kecskeméti rizling az egyik állapotkombinációt nem veheti fel.

Figyeljük meg, hogy az optikai lyukkártyáknál azt az eredményt, amit a különbségtáblázatból azonnal le tudunk olvasni, csak minden más kártyával való összehasonlítás (itt 257 művelet), szegélylyukkártya esetén

az egy különbség az összes (n) attributum egyenkénti kihagyásával (itt 14 művelet), 2 különbségnél $n(n-1)$ kombinációval ($14 \cdot 13 = 182$), 3 különbségnél $n(n-1)(n-2) = 2184$, 4 különbség esetén $n(n-1)(n-2)(n-3) = 24024$ művelettel tudnánk megkapni [29]. Esetleg célszerű lehet a különbségtáblázat és a szegélylyukkártya kombinációja is, főleg sok taxon vagy változékony csoportok esetén.

A párosító táblázat

A bonyolultabb eset az, amikor tévedünk, vagy éppen a határozó készítője nem olyan fenotípusokról írta le a taxont, mint amelyeket meghatározni kívánunk. Megnehezítheti a kikeresést ha a vektorban nulla vagy kiegészítő állapot van.

Tulajdonképpen minden politomikus határozó a saját (és a felhasználó) tévedhetetlenségére épült, pedig ez a teljesíthetetlen feltétel még csak nem is szükséges. Meg kell próbálni *részletekből összeállítani a képet* — a párosító táblázat segítségével. A sok attributumból álló vektorokat 2–5 attributum alvektorokra bontjuk, és a megfelelő állapotkombináció rovatába írjuk az indexüket. Az egyszerűség kedvéért fiktív példa következik:

Adatmátrix

Index	Vektor				A taxon neve
	I.	II.	III.	IV.	
1.	1 2	2	2	1	A
2.	2	1	2	0	B

Párosító táblázat

Az attributumok sorszáma	Lehetséges állapotok	Az ezt az állapotkombinációt felvehető vektorok indexei
I.—II.	00	—
	01	—
	02	—
	10	—
	11	—
	12	1
	20	—
	21	2
	22	1
	III.—IV.	00
01		—
02		—
10		—
11		—
12		—
20		2
21		1,2
22		2

Az utolsó három esetből látszik, hogy ha nulla szerepel, akkor azt a kérdéses attributum minden állapotának számítjuk. Ha kiegészítő kód is van, akkor ezek kombinációit is jelöljük.

Használata: ha nem találjuk meg azonnal a keresett vektort az adatmátrixban, vagy bizonytalanok vagyunk egy-két attributumnál, akkor kikeresjük a párosító táblázatban, hogy a felvett attributumcsoportoknak milyen indexű vektorok felelnek meg, és amelyik vektor mindegyiknél (téves határozáskor a legtöbbször) megtalálható, az a helyes. Példa az utóbbira:

helyes: 134152 indexe 5.
téves: 133152

I.—II.	13	3., 5., 8., 10.
III.—IV.	31	1., 2., 9., 11.
V.—VI.	52	5., 13., 15.

Egyetlen index szerepel két párosításban is (5.), valószínű, hogy vagy a III., vagy a IV. attributumnál tévedtünk. Megnézzük, hogy előfordul-e a III. attributum 3 állapotánál 5. index 31, 32, 33 stb. párosításban? Azt találjuk, hogy nem. Próbálkozzunk a IV. attributummal 11, 21, 31, 41 párosításokkal. Az utóbbi a helyes, itt találjuk ugyanis az 5. indexet. Természetesen ellenőrizzük az anyagon.

Idáig ez az egyetlen nyomtatott határozó, amelyik *minden attributum alapján külön-külön csoportosítja* a taxonokat. Felesleges hangsúlyozni ennek a rendszertani jelentőségét. Pl. ha valaki arra kíváncsi, hogy milyen taxonoknál van 5-nél több karéjú levél, akkor megkeressük a II. attributum 3 állapotának párosításait.

Ha sok vektorral dolgozunk, célszerű hármas, négyes, esetleg ötös csoportosításokat használni, hogy egy-egy csoportosításnál kevesebb vektor közül választhassuk ki a helyeset.

Részlet a párosító táblázatból:

Attributumok	Ezek állapotai	Indexek
V., VI., VII., VIII.	2211 2212	2., 87., 96. 2., 87. (nem hiba!)
IX., X., XI.	121	44., 106., 115., 117. 149., 209., 253.

Az összegező táblázat

Szintén a tévedések kijavítására és kikeresésére szolgál az *összegező táblázat*. Megmutatja, hogy az adott taxonnál az egyes állapotokból az összes attributumnál hány fordulhat elő.

Fiktív példa: 113423

Állapotkód	Az állapotkód előfordulásainak száma	Taxon index
0	0	1.
1	2	1.
2	1	1.
3	2	1.
4	1	1.

Nemcsak a legnagyobb és a legkisebb, de az összes közbeeső előfordulási számot is figyelembe veszi: gondoljunk a nullákra és a kiegészítő kódokra. Részlet az összegező táblázatból:

Állapotkód	Az állapotkód előfordulásainak száma	Taxon index
4	4	2., 3., 19., 36., 51., 61. 83., 127., 245.
	5	3. (nem hiba)
5	4	3., 18., 36., 88,
	5	3.

Használata hasonlít a párosító táblázatéhoz. Kiszámítjuk a vektorból az előfordulási értékeket, majd kikeressük a leggyakrabban található indexet. Ha több ilyen is van, akkor a párosító táblázat vagy az adatmátrix segít. Ha egy elemmel tévedtünk, akkor (ha a taxon más állapotvariációi nem kompenzálják a hibát) két előfordulási adat nem egyezik, az egyik eggyel kisebb, a másik eggyel nagyobb lesz. Tehát ahol nem találtuk meg az egyébként leggyakoribb indexet, ott az egyiket eggyel megnöveljük, a másikat eggyel csökkentjük, vagy fordítva. Ezután feltétlenül ki kell keresni az adatmátrixból a vektort. Ez a táblázat csak sok adat esetén szükséges, amikor a párosításoknál sok index szerepel. Bár nincs fizikai értelme, mégis pusztán formális logikával lényeges könnyítést jelent.

Példa egy teljes határozásra DPS-rendszer segítségével

Az alábbiakban fiktív példa következik (csak a kódkulcs valós), ugyanis a DPS-rendszer előnyei csak 10-nél több attributum és kb. 40–50-nél több faj (fajta stb.) esetén érvényesülnek, viszont egy ilyen terjedelmes rendszer nem fér egy cikk kereteibe. Valójában óriási adattömegben kell keresgélni, ami különleges módszerek nélkül igen nagy és pontatlan munka. Ez igazolja azt, hogy szükség van ezekre a nem is túlságosan bonyolult módszerekre.

Először megállapítjuk, hogy a határozni kívánt példány a kulcsban felvett attributumok milyen állapotaival rendelkezik, s egyidejűleg ezeknek az állapotoknak a kódjait is kiírjuk az attributumok sorrendjében:

KÓDKULCS

Az attributum		Az adott attributum állapotainak	
sorszáma	mire vonatkozik	jelentése	kódja
I.	a levél szőrzete a fonákon	hiányzik	1
		van	2
II.	a karéjok száma	0 (ép vagy tagolatlan)	1
		2—5	2
		5-nél több	3
III.	a vállöböl	nyílt	1
		zárt	2
IV.	a levélerezet színe	zöld	1
		a töve vörös	2
		vörös	3
V.	a levél széle	fűrészcs	1
		csipkés	2
		fogas	3
VI.	a levél őszi színeződése	sárga	1
		kárminpiros	2
		borvörös	3
		zöld alapon piros foltos	4
		sárga foltos	5
		sárga alapon sötét barnás-vörösön foltos	6

Tételezzük fel, hogy a példányon

I. a fonák levélszőrzete hiányzik	1
II. a karéjok száma 3 (2—5)	2
III. a vállöböl zárt	2
IV. a levélerezet színe: nemcsak a töve, de nem is az egész vörös	2 vagy 3
V. a levél széle fűrészcs	1
VI. a levél őszi színeződését nem ismerjük	0
stb.	

Tehát a példányról összeállítható vektor (állapothalmaz):

122210 — fővektor
3 kiegészítő vektor

Az adatmátrixban a következő fajták szerepelnek:

Index	Vektor	Fajta
.		
.		
15.	112324 2 3	A
16.	122115 2	B
17.	132334 5	C
18.	222331 3 4	D
.		
.		

A keresést 4, egyenként 6 attributumos fajta esetén a határozni kívánt példányról összeállított és az adatmátrixban található vektorok egyenkénti összehasonlításával is el lehet végezni. Ha azonban sok taxon sok attributummal szerepel, akkor főleg ha a példányunkról összeállított vektor nem egyezik meg teljesen az adatmátrix egyetlen vektorával sem, akkor a különleges táblázatokat kell használni, elsőként a párosító táblázatot:

Attributumok sorszáma	Lehetséges állapotok	Az ezt az állapotkombinációt felvehető vektorok (taxonok) indexei
I.—III.	112	15.
	122	15., 16.
	132	17.
	222	18.
	232	18.
IV.—VI.	115	16.
	324	15.
	331	18.
	334	15., 17., 18.
	335	17.

Példányunk állapotai az I.—III. attributumokban 122, ezek szerint 15 vagy 16 lehetne. A IV.—VI. attributumok állapotai 210 vagy 310 — ilyen kombináció nincs a táblázatban. A IV. attributum 1-es állapotának a 16., az V. attributum 2-es vagy 3-as állapotainak a 15., 16., 17., 18. taxonok felelnek meg.

Mivel mindkét attributumcsoportnál csak a 15. és a 16. szerepel, ezek között lehet választani. A választás most már csak azon múlik, hogy melyik attributumot (IV. vagy V.) tartjuk genetikailag stabilnak és/vagy megbízhatóbban észlelhetőnek.

Idáig eljuthatunk más úton is, az összegező táblázat segítségével:

Állapotkód	Előfordulásainak száma az adott taxon attributumainál	Taxon index
1	0	18.
1	1	15., 17., 18.
1	2	15., 16.
1	3	16.
2	1	15., 17.
2	2	15., 16., 18.
2	3	15., 16., 18.
3	0	16.
3	1	15.
3	2	15., 18.
3	3	17., 18.

Példányunk vektorában $\begin{pmatrix} 122210 \\ 3 \end{pmatrix}$ 2 attributumnál szerepel egyes, mint a 13.-ban és a 16.-ban, 2 vagy 3 kettes, mint 15.-ben és 16.-ban és 0 vagy 1 hármas szerepel, mint 16.-ban, illetve 15.-ben. Átfedésben maradt tehát 15. és a 16. (minden megfelelő előfordulási számánál csak a 15. és a 16. szerepelt), ezek lesznek a lehetséges taxonok, amelyekhez példányunk tartozik.

Alább sok attributumos példán láthatók ennek a táblázatnak a hibakorrigáló lehetőségei: ha két állapot-előfordulási számnál nem találtuk meg a többi, a példányunkra jellemző állapot előfordulási számoknál megtalálható indexet (indexeket), akkor a kritikus állapot-előfordulási számokat eggyel növeljük, illetve csökkentjük.

Legyen most példányunk vektora $\begin{pmatrix} 1132152531452 \\ 4 \end{pmatrix}$ a megfelelő taxon határozóbeli leírása 1132252531452 (ezt még nem találtuk meg), indexe legyen 59. Az összegező táblázatban kikeressük a megfelelő állapot-előfordulási számokkal rendelkező taxonokat.

Állapot	Előford. száma	Taxonindex
1	3	48., 57., 59., 61.
1	4	62., 78., 95.
2	3	52., 58., 65.
2	4	59., 72., 80.
3	2	59., 85., 90.
4	1	41., 59., 85., 93.
4	3	44., 59., 85., 99.
5	3	51., 55., 59., 85.

Példányunkra a *dölt* előfordulási számok a jellemzőek. Leggyakrabban (az utolsó négy előfordulási számnál) az 59. és a 85. szerepel, viszont ezeket nem találtuk meg az 1-es állapot 4-szeres és a 2-es állapot 3-szoros előfordulásánál. Nyilvánvaló, hogy e két állapotkód-előfordulási szám közül az egyik nagyobb, a másik kisebb a határozó megfelelő vektorában, mint a példányunkról leírt vektorban. Feltételezhető, hogy csak egy a különbség a problematikus

állapot-előfordulásoknál. Például ha egy attributum állapotát 2-esnek észleljük, de az az attributum a megfelelő taxonnál a határozó szerint 1-es állapotban van, akkor a példány vektora szerinti előfordulási szám az 1-es állapotra 1-gyel kisebb, a 2-es állapotra 1-gyel nagyobb lesz, mint a megfelelő taxon határozóban megadott vektora szerint. Természetesen nem tudhatjuk, hogy melyik állapotkód-előfordulási szám kisebb és melyik nagyobb, ezért mindkettővel kell próbálkoznunk. Vonjunk le az 1-es állapot előfordulási számából egyet ($4-1=3$) és adjunk hozzá a 2-es állapot-előfordulási számához 1-et ($3+1=4$). Ezeknél az állapot-előfordulásoknál már megtaláljuk az 59.-et.

A párosító és az összegező táblázat rendeltetése a keresés, de más-más módszerrel. Ha az egyik nem vezet kielégítő eredményre, akkor meg kell próbálkoznunk a másikkal. Célszerű a biztosabb eredményt adó párosító táblázattal kezdeni.

A következő lépésben meghatározzuk, hogy példányunkat mivel tévesztettük össze. Ez a művelet a különbségtáblázat segítségével történik, ami megmutatja, hogy az adott taxon minimálisan hány attributumnál különbözik minden egyes más taxontól (visszatérve az eredeti példára):

taxon 15.

Különbség (d)	A fentiekől <i>d</i> attributum- tamban különböző taxonok
0	—
1	17., 18.
2	—
3	16.
.	
.	
.	

taxon 16.

Különbség (d)	A fentitől <i>d</i> attributum- ban különböző taxonok
0	—
1	—
2	—
3	15., 17.
4	18.

Tehát ha pl. a 15. taxon felel meg az eddigiek alapján példányunknak, akkor a példányt összehasonlítjuk a 17. és 18. leírásával (ami az adatmátrixban található), s így az esetleges „melléhatározást” helyesbíthetjük.

Néhány matematikai optimalizációs követelmény
(megértésük csak elméleti szempontból lényeges)

A leírás követelményei

a) Az attributumok kiválasztása

Az átlagos információtartalom mértéke az entrópia [27]. Mivel itt több attributum állapota szolgáltatja az információt, és ezek általában nem függetlenek egymástól, így a $H([a_\alpha | a_\beta | \dots | a_\omega])$ feltételes entrópiával adhatjuk meg az átlagos információtartalmat ($a_\alpha, a_\beta \dots a_\omega$, az 1., 2. ... z-edik attributum állapotai)

$$H([a_\alpha | a_\beta | \dots | a_\omega]) =$$

$$= - \sum_{\alpha=1}^{m_1} \sum_{\beta=1}^{m_2} \dots \sum_{\omega=1}^{m_z} p_\omega P([a_\alpha | a_\beta | \dots | a_\omega])_i \times \log P([a_\alpha | a_\beta | \dots | a_\omega])_i^*,$$

ahol p_ω annak valószínűsége, hogy a z-edik attributum a_ω állapotban van, $P([a_\alpha | a_\beta | \dots | a_\omega])$ annak valószínűsége, hogy ha az attributum állapota a_ω , akkor z-1 állapota a_ω , és így tovább, 2 állapota a_β , az 1. állapota a_α .

Keressük $H([a_\alpha | a_\beta | \dots | a_\omega]) = H_F$ maximumát q_k , illetve q_i különböző $P([a_\alpha | a_\beta | \dots | a_\omega])$ állapotkombináció feltételes valószínűségek szerint. Jelölés: $q_k = P_k([a_\alpha | a_\beta | \dots | a_\omega])$

$$\sum_{k=1}^n \frac{dH_F}{d_{qk}} = 0$$

ha $q_k = q_i$ Minden k, i-re (tehát az egyes attributumállapotok előfordulásának valószínűsége független egymástól) H_F maximuma p_i állapotvalószínűségek szerint:

$$\frac{dH_F}{dp_i} = 0 \quad \text{ha} \quad p_i = \frac{1}{m}$$

(tehát attributumon belül az azonos állapotgyakoriságok optimálisak, m az adott attributum állapotainak száma). Ez utóbbi feltétel másokhoz képest alárendelt.

b) Az attributumok skálázása

Alapvető ellentmondás, hogy az optimális állapotintervallum-középpérték kiszámításához az optimális állapotintervallum-szélesség ismerete szükséges és fordítva. Általában az állapotközép becslése (önkényesen) egyszerűbb és pontosabb, ezért annak implicit becslésével kell kezdeni, majd az állapotintervallum szélességét kell megállapítani, aminek feltétele, hogy

$$(a_f - a_a) \geq \delta$$

ahol a_f , illetve a_a az állapotintervallum felső, illetve alsó határértéke, δ pedig az a állapotot felvehető összes taxonon értelmezett $p(a)$ eloszlás megfelelő konfidencia-intervallum-szélessége (nagy konfidenciaérték a szelektivitást csökkenti, ezért optimalizálni kell).

* m_i az i-edik attributum lehetséges állapotainak száma

Ha mégis az állapotintervallumokat becsülnénk, akkor az a állapotközepet az

$$(m_{p(a)i} - \bar{a}) \leq \varepsilon$$

feltételt kielégítő taxonok számának maximalizálásával kapjuk meg ($m_{p(a)i}$ az i -edik taxon adott állapoteloszlásának mediánja; ε alkalmas küszöbérték).

Az algoritmus(csomag) és a vele szemben támasztott követelmények

Az n számú attributumot úgy is értelmezhetjük, mint egy R^n n -dimenziós absztrakt tér dimenzióit, az egyes attributumállapotokat pedig mint a megfelelő koordinátákat.

Az egyes fenotípusok meghatározott eloszlás szerint elhelyezkedő diszkrét pontoknak felelnek meg. Mivel azonban egy taxonhoz (típushoz) több fenotípus is tartozik (gyakorlatilag végtelen sok), így a taxon pontjai alteret határoznak meg, amiben az állapotgyakoriságok sűrűségfüggvénye nem feltétlenül egycsúcsú és folytonos. Lényeges tehát, hogy *altereket* és ne pontokat *keressünk*, mint ahogy pl. a politomikus határozásnál szokás.

Az algoritmus műveleteinek többé-kevésbé felcserélhetőeknek kell lenniük, hogy 1–2 koordináta ismeretének hiánya ellenére is eljuthassunk 1–2 dimenziós vetülethez, amelyben már csak néhány taxon altere szerepel. (A politomikus határozó [irányított dendrogram] műveletei felcserélhetetlenek.)

Célszerű az R^n tér $k \ll n$ dimenziós vetületeinek elkészítése, mert bennük az alterek jobban lokalizálhatók, mint az R^n térben. Emellett a vetületi eloszlásokat is megkapjuk.

Az alterek középpontjainak távolságait csak rendszerezési vizsgálatokban érdemes meghatározni (becsülni), határozásnál fontosabb és használhatóbb a nem egyező koordináták számának ($\sum_{i=1}^n d_i$) ismerete

$$d_i = 0 \quad \text{ha} \quad k_{i,j} \cap k_{i,1} \geq \varepsilon$$

$$d_i = 1 \quad \text{ha} \quad k_{i,j} \cap k_{i,1} < \varepsilon,$$

ahol $k_{i,j}$ a j -edik taxon i -edik attributumának állapotintervalluma, ε alkalmas küszöbérték.

Itt csupán néhány szempontot vetettem fel, amelyekkel azt kívántam volna érzékeltetni, hogy mennyire fontos lenne a határozás elméletének kifejlesztése, mert még az alapokat sem fektették le. A szakirodalom még inkább csak az egyes módszerek összehasonlításához jutott el, utalok itt PANKHURST [26] cikkére.

Megtiszteltetésnek venném, ha együttműködhetnék olyan szakemberekkel, akik adataik alapján DPS-határozót szeretnének készíteni.

Összefoglalás

A DPS az adatazonosításnak, a határozásnak a kézi lyukkártyánál sokoldalúbb, nem folyamatos munka esetén a teljes komputerizált feldolgozásnál lényegesen olcsóbb módszere. Alkalmazása független a határozni kívánt fogalom minőségétől (növényfaj, műszaki hiba, közet stb.), ezért a tudomány és a technika bármely területén használható. Kész, rugalmas számítógép-

program állítja össze, olcsóbban, gyorsabban, mint a hagyományos módszerek. összehasonlít bármely két taxont, és az egyes attribútumok alapján külön-külön rendszerezi az összeset (párosító táblázat). Bevezeti az összegező táblázatot. Hibatűrése nagy, mert lehetővé teszi a kétszeres, sőt, többszörös állapotokkal való határozást anélkül, hogy a hatékonyságot lényegesen csökkentené.

A kódkulcs (néhány oldal) lefordításával nemzetközivé tehető. A különbségtáblázat kivételével egyszerűen bővíthető. Részben a szegély- és az optikai lyukkártya elveire emlékeztető, de új algoritmus, ami az elméleti és gyakorlati munkában egyaránt hasznos lehet.

Köszönetnyilvánítás

Ezúton mondok köszönetet rendkívül értékes támogatásukért Dr. Balogh János akadémikusnak, Dr. Endrődi Sebőnek, Dr. Nagy Barnának, Dr. Juhász Nagy Pál docensnek, Dr. Tomcsányi Pálnak, a mg. tudományok doktorának és Dr. Németh Márton kandidátusnak. Külön köszönet illeti az ELTE Numerikus és Gépi Matematikai Tanszék dolgozóit értékes segítségükért.

IRODALOM

1. ARCHIBALD, D. (1967) *Quick-key Guide to Trees: Trees of northeastern and central North America*. Doubleday, Garden City.
2. BARNETT, J. A. and PANKHURST, R. J. (1974) *A new key to the yeasts*. North-Holland American Elsevier, Amsterdam—New York, 273.
3. BOSSERT, W. (1969) Computer techniques in systematics. In: *Systematic Biology*, publ. 1962, Nat. Acad. Sci., Washington, 595—614.
4. COWAN, S. T. and STEEL, K. J. (1960) A device for the identification of micro-organisms. *Lancet*, 1172—1173.
5. DALE, M. B. (1968) On property structure, numerical taxonomy and data handling. In: HEYWOOD, V. H. (ed.): *Modern methods in plant taxonomy*. Acad. Press, London—New York, 185—197.
6. DYBOWSKY, W. and FRANKLIN O. A. (1968) Conditional probability and identification of bacteria: a pilot study. *J. Gen. Microbiol.*, **54**, 215—229.
7. GYLLENBERG, H. (1965) A general method for deriving determination schemes for random collections of microbial isolates. *Ann. Acad. Fenn.*, ser A, IV, Biol. **69**, 1—23.
8. GYLLENBERG, H. (1965) A model for computer identification of microorganisms. *J. Gen. Microbiol.*, **39**, 401—405.
9. HALL, A. V. (1967) Studies in recently developed group-forming procedures in taxonomy and ecology. *J. S. Afr. Bot.*, **33**, 185—196.
10. HALL, A. V. (1962) Methods for showing distinctness and aiding identification of critical groups in taxonomy and ecology. *Nature*, **218**, 203—204.
11. HALL, A. V. (1969) Group-forming and discrimination with homogeneity functions. In: *Numerical Taxonomy*; Proceedings of the 1968 Colloquium on Numerical Taxonomy at the Univ. of St. Andrews. Acad. Press, London, 53—68.
12. HALL, A. V. (1969) Automatic grouping programmes: The treatment of certain kinds of properties. *Biol. J. Linn. Soc.*, **1**, 321—325.
13. HALL, A. V. (1970) A computer based system for forming identification keys. *Taxon*, **19**, 12—18.
14. JARDINE, N. and SIBSON, L. (1971) *Mathematical Taxonomy*, Wiley, New York, 286.
15. LAPAGE, S. P., BASCOMB, SHOSHANA, WILLCOX, W. R., CURTIS, M. A. (1970) Computer identification of bacteria. In: BAILLIE, A. and GILBERT, R. J. (ed.) *Automation, mechanization and data handling in microbiology*. Acad. Press, London—New York, 1—22.

16. METCALF, Z. P. (1954) The construction of keys. *Syst. Zool.*, **3**, 38—45.
17. MORSE, L. E. (1968) Construction of identification key by computer. *Am. J. Bot.*, **55**, 737.
18. MORSE, L. E., BEAMAN, J. H., SHETLER, S. G. (1968) A computer system for editing diagnostic keys for Flora North America. *Taxon*, **17**, 479—483.
19. MORSE, L. E., PETERS, J. A., HAMEL, P. B. (1971) A general data format for summarizing taxonomic information. *Bio Sci.*, **21**, 174—180., 186.
20. MORSE, L. E. (1971) Specimen identification and key construction with time-sharing computers. *Taxon*, **20**, 269—282.
21. MORSE, L. E. (1973) Computer programs for specimen identification, key construction and description, printing, using taxonomic data matrices. Biol. Ser., Mus. Michigan State Univ.
22. NÉMETH M. (1966) *Borszölgfajtak határozókulcsa*. Mezőgazd. Kiadó, Budapest, 274.
23. NÉMETH M. (1967) *Ampelográfiai album I*. Mezőgazd. Kiadó, Budapest, 235.
24. NÉMETH M. (1970) *Ampelográfiai album II*. Mezőgazd. Kiadó, Budapest, 274.
25. PANKHURST, R. J. (1971) Botanical keys generated by computer. *Watsonia*, **8**, 357—368.
26. PANKHURST, R. J. (1974) Automated identification in systematics. *Taxon*, **23**, 45—51.
27. SHANNON, C. E. (1948) A Mathematical Theory of Communication. *Bell System Techn. J.*, **27**, 379—423, 623—656.
28. SHETLER, S. G., BEAMAN, J. H., HALE, M. E., MORSE, L. E., CROCKETT, J. J. and CREIGHTON R. A. (1971) Press-Pilot data processing system for floristic information. In: CUTBILL, J. L. (ed.): *Advances in data processing for biology and geology*, Acad. Press, London and New York, 275—310.
29. TOMCSÁNYI, P. (1968) A kutatói ismeretgazdálkodás és a kézi lyukkártya technikája. OMgKDK, Budapest, 205.
30. WILLCOX, W. R., LAPAGE, S. P. (1972) Automatic construction of diagnostic tables. *Computer J.*, **15**, 263—267.
31. WILLIAMS, W. T. (1967) The computer botanist. *Australian J. Sci.*, **29**, 266—271.
32. WILLIAMS, W. T. (1969) The problem of attribute-weighting in numerical classification. *Taxon*, **18**, 369—374.

DIFFERENCE-PAIRING-SUMMARIZING-(DPS) TABLES: A NEW IDENTIFICATION SYSTEM OF HIGH ERROR-TOLERANCE

I. Ladunga

National Planning Office; Secretariate for Coordination and Science
Budapest, Hungary

DPS is a method of identification applicable to a broader field than the punched-card system. In a fully computerized processing and non-continuous working time it is considerably cheaper too. The applicability of DPS is independent on the nature of specimen to be identified (e.g. botanical species, technical failure, rocks etc.), thus it may be used in any field of science and technology. DPS is constructed by a ready-made, adaptable computer program, cheaper and speedier than by the traditional methods. It compares each pairs of taxa and it classifies each of them separately according to any individual attributes (Pairing tables). It introduces the Summarizing table. Its error-tolerance is high thus it makes possible identification by double or even multiple states without significantly reducing the efficiency.

By translation of the code-key the system becomes internationally applicable. It can be easily extended except for the Difference-table. It is a new algorithm based on the principles of partly the marginal punched card system partly the peek-a-boo. This new method seems to be useful in both the theoretical and practical work.

A SZERVEZET FIZIKO-KÉMIAI DEFENZIÓJA

BERTÓK LÓRÁND

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

Beérkezett: 1976. december 10.

Kulcsszavak: endotoxin, epesavak, detergens hatás, detoxifikáció, ólomacetát

A szervezet fertőzésekkel szembeni védekező mechanizmusainak vizsgálata szinte egybeesik a mikrobiológia kialakulásával. A fertőzések okainak, a kórokozóknak a felfedezése és több esetben az ellenük való védekezés kidolgozása a kutatókban azt a hitet keltette, hogy csak idő kérdése, míg valamennyi fertőző betegség kórokozóját megtalálják és ellenük megfelelő specifikus védekező eljárást dolgoznak ki. Így a specifikus védelemre való törekvés miatt a természetes ellenállóképeség, ill. a szervezet más védekező mechanizmusainak vizsgálata háttérbe szorult. Hosszú évek során kiderült azonban, hogy vannak olyan kórokozók, melyek ellen hathatósan nem lehet védekezni a bevált, specifikus immunológiai módszerekkel. Ezek közé tartozik a Gram-negatív baktériumok nagy része is. Sajnos, e baktériumok okozta szepszisek és toxémiák még ma, az antibiotikumok korában is igen nagy gyakorlati problémát jelentenek. Újabb statisztikák szerint például az Amerikai Egyesült Államokban egy év alatt 300 000 ember kerül kórházi kezelésre ilyen okok miatt, és ezek közül 100 000 hal meg [27, 36]. A Gram-negatív bélbaktériumok közül különösen az újszülöttek *Escherichia coli* okozta diszpepsiás kolitiszének van igen nagy jelentősége. Ez a kórkép tulajdonképpen enterotoxémia, mely mind csecsemőkben, mind hasznos háziállataink (sertés, szarvasmarha) újszülötteiben igen gyakori. Hazánkban évente több százmillió forintba becsülhető az a kár, amelyet az újszülött állatok enterotoxémia miatti elhullása okoz [5, 6, 9, 20].

Annak ellenére azonban, hogy ezeket az enterotoxémiás kórfarmákat igen régóta, mondhatni a bakteriológia hőskora óta ismerjük, mégis igen keveset tudunk patogenezisükről. Az enterotoxémiák prevenciójában az okozó baktériumok antigén változatainak nagy száma miatt a klasszikus immunológiai módszerek (vakcinációk), de az antibiotikum kezelések sem hoztak végleges megoldást. Mióta azonban a Gram-negatív bélbaktériumok sejtfalából kivont toxikus hatású anyagok, az úgynevezett endotoxinok hatását megismertük, és valószínűvé vált, hogy ezek a toxinok felelősek az enterotoxémiák kialakulásáért, ismét előtérbe került a természetes ellenállóképeség kérdése. Ez vezetett el bennünket is 15 évvel ezelőtt a természetes ellenállóképeség és a bakteriális endotoxinok összefüggéseinek vizsgálatához.

Jelen dolgozatban megpróbálom magam, volt és jelenlegi munkatársaim munkáiból összerakni azokat az adatokat, melyek kiegészítve az irodalomban találtakkal elvezettek egy új, a címben jelzett védekezési mechanizmus felismeréséhez.

Régóta tudjuk, hogy a bakteriális endotoxinok mérgező hatásukat kísérleti körülmények között csak akkor tudják kifejteni, ha parenterálisan juttatjuk azokat a szervezetbe [6, 7]. Az irodalmi adatok többsége éppen ezért egy olyan kísérleti modellre vonatkozik, amely a természetes megbetegedésektől az endotoxin szervezetbe való jutásának módjában különbözik [10, 12, 13]. Ismeretes ugyanis, hogy az enterotoxiémiákban az endotoxin mindig a béltraktusból kerül a keringésbe. Ennek ellenére a parenterálisan (intraperitoneálisan vagy intravénásan) adott endotoxin emlősökben olyan sokk-állapotot hoz létre, amely valóban nagymértékben hasonlít a természetes megbetegedések (enterotoxiémiák) terminális szakaszához (hasmenés, elesettség, keringési zavarok stb.) [20, 38]. Az ilyen, kísérleti endotoxin sokkban elpusztult állatok boncolása és szövettani feldolgozása során a természetes megbetegedésekben észlelhető elváltozásokkal (bélödéma, vérzések) azonos elváltozások találhatók [38]. Kiderült vizsgálatainkból az is, hogy parenterális (intravénás vagy intraperitoneális) endotoxin bevétel esetén az egyes fajok endotoxin érzékenységében bizonyos filogenetikai összefüggés mutatható ki [6]. Eszerint megkülönböztethetünk érzékeny és rezisztens fajokat. Így, míg például az ember, a ló, a szarvasmarha vagy a tengerimalac rendkívüli érzékenységet mutatnak, addig a madárfélék csak meghatározott korú embrióállapotban érzékenyek, a kétéltűek és a halak pedig teljesen rezisztensek az endotoxinnal szemben [35]. Tehát az endotoxin-érzékenység az alacsonyabb rendűektől a magasabb rendűek felé növekedni látszik. Viszont érzékeny fajokban sem fejt ki toxikus hatást az endotoxin, ha szájon keresztül adjuk be azt. Ennek okát nem tudták megfejteni, mert kiderült, hogy senki sem tud olyan enzimet találni, amely az endotoxint a szervezetben *in vivo* bontani tudná [39]. A szájon keresztül bevitt endotoxin még akkor sem hat, ha a parenterális halálos dózis 500—3000-szeresét adjuk be a kísérleti állatoknak. Sőt, még akkor is hatástalan a szájon keresztüli kezelés, ha a bélnyálkahártyát előzetesen 40/80 (hisztamin liberátor vegyület) injekcióval vagy röntgensugárzással károsítjuk [7]. Kiderült továbbá az is, hogy a szájon keresztül bevitt endotoxin a gyomor-béltraktusból fenolvizes eljárással, toxikus formában nyerhető vissza [4]. Minimális endotoxin felszívódást sem tudtunk kimutatni még az igen érzékeny ólomacetátos módszerünkkel sem. Ezzel pedig — amely azon alapszik, hogy a nem toxikus mennyiségű ólomacetát intravénás adása patkányokban 10 000—100 000-szeresére fokozza azok endotoxin érzékenységét — már 1—3 μg endotoxint is ki lehet mutatni [8, 11, 41]. Nem lehetett tehát sem az irodalmi adatok, sem saját kísérleteink alapján magyarázni azt, hogy a természetes megbetegedésekben hogyan kerül be az endotoxin a béltraktusból a keringésbe. Egyszerűen nem sikerült modellezni az endotoxin bélből való felszívódását, illetve nem tudtuk azt magyarázni, hogy mi az oka egészséges állatok hallatlan enteriális endotoxin-tűrőképességének. Ekkor figyeltünk fel egy amerikai kutatócsoport [40] vizsgálataira, akik kimutatták, hogyha az endotoxint nátrium-dezoxikoláttal kezelik, atoxikus fragmentumok keletkeznek belőle, melyek azonban vissza tudnak rendeződni toxikus endotoxinná a nátrium-dezoxikolát dialízissel történő eltávolítása esetén. Ha a rendszerben fehérje is jelen van, úgy a folyamat irreverzibilissé válik, mert a fragmentumok kötődnek a fehérje-molekulákra. Ilyen esetben már csak a szokásos endotoxin kivonási módszerekkel (pl. fenolvizes eljárás) [44] lehet az eredeti endotoxint az elegyből némi veszteséggel visszanyerni. Ez felkeltette a gyanúunkat, hogy az epesavnak *in vivo* is lehet jelentősége az endotoxin inaktiválásában. Ez eset-

ben teljesen magyarázható a fentebb említett észlelésünk, miszerint a szájon át bevitt endotoxin megfelelő kivonási eljárással toxikus formában nyerhető vissza a béltraktusból, ahol ezek szerint fragmentált, tehát atoxikus állapotban van jelen. Támogatta elképzelésünket az a megfigyelés is, hogy az úgynevezett „coli dyspepsiá”-ban megbetegedett borjak és malacok bélsara minden esetben akóliás és nagy mennyiségű neutrális zsírt tartalmaz [37]. Feltehető volt tehát, hogy epehiányos állapotról van szó. Az epe szerepére utalt az a megfigyelésünk is, hogy a parenterálisan endotoxinnal mérgezett egerekben boncoláskor igen feltűnő az ödémás vékonybél kifejezett sárga színe, epés beivódása [20]. Ennek oka valószínűleg az lehet, hogy a szervezet megpróbál a kórok ellen a természetes helyén, a bélben védekezni, de a támadás nem onnan éri, és tulajdonképpen „fals” védekezési reakciót produkál. Tudjuk továbbá azt is, hogy a bakteriális endotoxin kémiaiilag egy lipopoliszacharid molekula, amelyben a toxikus hatás valószínűleg a zsírsavakban gazdag lipid részhez kötött [39].

A fentiek alapján bátran gondolhattunk arra, hogy az endotoxin *in vivo*, a bélsatornában történő funkcionális detoxifikálása az epe, illetve az epesavak jelenlétéhez kötött. Feltételezésünk bizonyítására patkánykísérletet végeztünk.

Az összehasonlító anatómiából ismeretes, hogy a patkányoknak nincs epehólyagjuk, így alkalmasnak látszottak arra, hogy a közös epevezető kanülálása révén epehiányos állapotot hozzunk bennük létre. Megfelelő műtéti technikával valóban sikerült is patkányokban olyan krónikus epehiányos állapotot létrehozni, amely alkalmas modell lehetett az endotoxin bélből való felszívódásának tanulmányozására [30]. Feltételezésünk szerint kísérleti célból egészséges állatnak a belébe juttatott vagy az ott természetes körülmények között a Gram-negatív baktériumokból felszabaduló endotoxin azért nem okozott tüneteket, mert a bélben állandóan jelenlevő epesavak detergens hatásuk révén azt a helyszínen fragmentálják, atoxikus komponensekké alakítják, melyek a bélnedvben levő fehérjékhez kötődnek. Ezek szerint feltételezhető, hogy az enterotoxémiában epehiányos állapotnak kell lennie. Ezt próbáltuk meg reprodukálni patkánykísérleteinkben. Kísérleteinkhez *Escherichia coli*-ből fenolvizes eljárással [44] endotoxint állítottunk elő, és azt tríciummal vagy radiokrómmal, illetve mindkettővel jeleztük, remélve azt, hogy így jobban nyomon tudjuk követni az endotoxin útját a szervezetben [33]. Ha az endotoxint szájon keresztül (szondán át) normál patkányoknak adtuk be, felszívódást nem tudtunk kimutatni. Az állatok természetesen teljesen tünetmentesen viselték el ezt a beavatkozást. Ha azonban az endotoxint olyan patkányoknak adtuk szondán keresztül, amelyek epefisztulával rendelkeztek — azaz epehiányos állapotban voltak —, az állatok endotoxin-sokkban elpusztultak. Vérékből az endotoxin izotópos és biológiai módszerrel (ólomacetáttal endotoxin túlerzékennyé tett patkányokban való teszteléssel [8, 14, 41]) is ki lehetett mutatni. Bizonyítani tudtuk tehát, hogy az endotoxin csak abban az esetben tud felszívódni a béltraktusból, ha ott epesavak nincsenek. Ezt még meggyőzőbben bizonyíthattuk úgy is, hogy az endotoxint beadás előtt nátrium-dezoxikoláttal együtt inkubáltuk, majd epefisztulás patkányoknak szájon keresztül (szondán át) beadtuk. Megállapíthattuk, hogy az epesavas sók jelenléte teljesen megvédte a patkányokat az endotoxin-sokk kialakulásától [30, 32]. Ugyanilyen eredményeket kaptunk természetes patkány-, sertés- és szarvasmarha-epével is: azaz, ha szubsztituáltuk a hiányzó epesavakat,

ez biztos védelmet jelentett az endotoxin-sokk ellen. Kísérleti modellünkkel sikerült tehát bizonyítani azt, hogy az endotoxin bélből való felszívódásában az epesavaknak, illetve hiányuknak igen fontos szerepe van. Kézenfekvőnek tűnt ezek után az a magyarázat, hogy az epesavaknak ez a hatása egyszerűen egy fiziko-kémiai, felületaktív, detergens hatás. Érdeemesnek látszott ezért megvizsgálni, hogy vajon más detergens is képesek-e hasonló hatást kifejteni. Az endotoxin inaktíváló képesség megállapítására két gyors tesztet dolgoztunk ki [15, 43]. Az egyiknek az a lényege, hogy az endotoxin biztosan halálos mennyiségét összekeverjük a vizsgált detergens intraperitoneálisan még nem toxikus mennyiségével és inkubálás után patkányoknak intraperitoneálisan beadjuk. A másik teszt mikromennyiségek vizsgálatát teszi lehetővé intravénás technikával, ólomacetáttal endotoxin iránt túlérzékenyített patkányokon. Ezekkel a módszerekkel megállapítottuk, hogy a különféle állatokból származó epe és a nátrium-dezoxikolat teljesen (100%-ban) a nátrium-laurilszulfát és a cetilammóniumbromid részlegesen (80, illetve 60%-ban) felfüggeszti az endotoxin hatását, míg a benzalkóniumklorid, a Tween-20 és a polioxietilénszterát hatástalanok voltak. Legjobbakkak tehát az epesavak mutatkoztak [15]. Érdekes megemlíteni, hogy az epével kezelt endotoxin megtartja endotoxin tolerancia kiváltó hatását [21]. Erre úgy jöttünk rá, hogy a tesztelés után túlélő patkányokon megpróbáltunk endotoxin-sokkot kiváltani, de ez nem sikerült. Többször megismételve a kísérleteket, ugyanezt az eredményt kaptuk. Ezek alapján úgy gondoljuk, hogy ez reménykeltő lehetőség abból a szempontból, hogy az endotoxin molekula fragmentálásával esetleg olyan frakciót vagy frakciókat lehet nyerni, melyek jelentősen kisebb molekulásúak és hasonlóan az általunk sugárzással előállított detoxifikált endotoxinhoz [2, 16, 18], rendelkeznek az endotoxin hasznos tulajdonságával (tolerancia kiváltó- a természetes ellenállóképességet fokozó hatás) anélkül, hogy toxikusak lennének.

Eddigi eredményeink alátámasztották tehát azt az elképzelésünket, hogy az endotoxin bélben történő inaktíválása az epesavak detergens hatásával függ össze. Vizsgálataink így alapot szolgáltatnak arra, hogy az újszülöttkori enterotoxémiák patogenezisének új magyarázatát adhassuk. Feltételezhető ugyanis, hogy az újszülöttek egy részében az epetermelés vagy epeürülés megindulása nem esik egybe a születés pillanatával, és így egy ideig epehiányos állapot van. A külvilágról közben igen gyorsan az újszülött bélcsatornájába beszorodnak a Gram-negatív baktériumok, és belőlük endotoxinok szabadulnak fel, melyek a természetes detergens, az epe hiányában valami módon felszívódnak és kifejtik káros hatásukat. Tulajdonképpen ugyanaz történik, mint a kísérleti epefisztulás patkányokban az endotoxin szájon keresztüli beadása után. Logikusnak tűnt tehát az a gondolat, hogy rögtön a születés után adott detergens készítménnyel, legcélszerűbben epesavakkal, meg lehet akadályozni a betegség kialakulását. A beadott epesav ugyanis szubsztituálhatja a szervezet pillanatnyi hiányát, és belépve az enterohepatikus cirkulációba, fokozza az epesavak termelését és a bélbe való kiürülését, azaz „beindítja” a szervezet védekező mechanizmusát. Fenti kísérleteink és ebből levont következtetéseink alapján született meg egy olyan epesavas készítmény, amelyik alkalmasnak látszik az újszülöttkori enterotoxémiák prevenciójára [31]. A készítmény „Detertoxon” néven már kipróbálásra került, és az eddigi eredményekből úgy látszik, hogy beváltotta a hozzáfűzött reményeket. Sikerült tehát egy több évtizede immunológiai és kemo-

terápiás úton véglegesen meg nem oldható problémát, az újszülöttkori enterotoxémiák prevencióját megoldani.

Ha megpróbáljuk ezek után most már általános kórtani szinten megfogalmazni a kérdést, akkor azt mondhatjuk, hogy az endoxinok bélből történő felszívódásával kapcsolatban sikerült megismernünk a szervezetnek egy eddig ismeretlen védekező mechanizmusát, melynek jelentősége valószínűleg túlmutat a bakteriális endotoxinok elleni védelmen. Ezt a védekező mechanizmust nevezem a szervezet fiziko-kémiai defenziójának. A fiziko-kémiai defenzió alapja tehát az epesavak detergens hatása.

Ezek után felmerülhet az a kérdés, hogy ez a detergens hatásból adódó defenzió csak az újszülöttek enterotoxémiája elleni védelemben, illetve hiánya csak e kórképek patogenezisében játszik-e szerepet, vagy más olyan kórképekben is, amelyekben feltételezhető az endotoxin kórtani hatása. Ilyen lehet pl. a sugárbetegség, melynek intesztinális fázisában éppen magunk mutattuk ki ólomacetátos módszerrel a bakteriális endotoxémia jelentőségét [17]. Ugyanakkor mások kimutatták, hogy sugárhatásra megváltozik a szervezet epe-termelése [23]. Így logikusnak tűnik az a következtetés, hogy a sugárbetegség intesztinális fázisában létrejövő endotoxémia az időleges epesav deficiencia eredménye lehet. Hasonlóképpen feltételezhető az is, hogy a vaszkuláris ileuszokban is azért van az endotoxinoknak általunk kimutatott patogenetikai szerepe [28], mert az epe-termelésben is zavar lehet. Nem zárható ki az sem, hogy több sokk formában is fontos szerepet játszhat az endotoxémia, illetve az ezt létrehozó vagy elősegítő epehiányos állapot [1, 28, 29].

Feltehetjük tehát azt a kérdést, hogy vajon az epesavak detergens hatása mint fiziko-kémiai defenzió csak a bakteriális endotoxinok ellen irányul-e? Ismeretes ugyanis THEILER-nek [42] az a megfigyelése, hogy a sárgaláz vírusa és más „arthropod-borne” (rendszerint jelenleg: togavírusok) vírusok, ha epével vagy nátrium-dezoxikoláttal hozzák azokat össze, inaktíválódnak, míg a gyermekbénulás, az egér agyvelő-, és szívizomgyulladás és a coxsackie vírusok ennek a kezelésnek ellenállnak. Ez a megfigyelés vált azután a vírus klasszifikációnak egyik fontos eszközévé, melynek alapján a vírusokat két nagy csoportra, nátrium-dezoxikolátra érzékeny és nátrium-dezoxikolátra rezisztensek csoportjára lehet felosztani. Érdekes módon senki sem figyelt fel, maga THEILER sem [42] ennek a ténynek kórtani jelentőségére. Pedig elgondolkoztató, hogy THEILER [42] éppen a sárgaláz vírusával kapcsolatban figyelte meg először az epének vírusellenes hatását. Ha ugyanis megvizsgáljuk az epesav érzékeny és rezisztens vírusokat, akkor kiderül, hogy csak azok a vírusok érzékenyek, amelyek megfelelő lipoproteid borítékkal (peplonnal) rendelkeznek. Ezzel szemben a boríték nélküliek mind rezisztensek. Logikusnak látszik tehát azt feltételezni, hogy az epesavak detergens hatása *in vivo* is mindazokon a vírusokon érvényesülhet, amelyek lipoproteid borítékkal rendelkeznek. Így ennek esetleg szerepe lehet az ilyen kórokozók elleni védelemben. Magunknak is sikerült modellkísérletben a „herpes” csoportba tartozó Aujeszky-féle víruson demonstrálni az epesavak ilyen irányú hatását [19].

Az epesavak fontosságának felismerése az endotoxinok elleni védelemben, felvetette azt a kérdést is, hogy vajon a különféle fajok endotoxin érzékenységében, illetve rezisztenciájában nincs-e szerepe az epeösszetételük különbözőségének. Ezzel kapcsolatban eddigi előzetes vizsgálataink során megállapítottuk, hogy igen nagy mértékben különbözik egymástól az érzé-

keny (pl. szarvasmarha, tengerimalac) és a rezisztens fajok (pl. madár, hal) epéjének epesav garnitúrája [14]. Talán a jellegzetes epesavak ontogenetikus periódusokhoz kötött fokozottabb termelésével magyarázható az a tény is, hogy a csirkeembrió csak 11 napos koráig érzékeny az endotoxinra, míg később vagy kifejelett korban csak ólomacetátos kezeléssel lehet a madarakat az endotoxin iránt érzékennyé tenni [35]. Itt kapcsolódhat a kérdéshez az a feltevés, hogy az epesavak nemcsak a bélben, hanem a májban is fontos tényezői a bakteriális endotoxinok detoxifikálásának. Valószínűnek látszik hogy az ólomacetát okozta endotoxin túlérzékenységekben is az epesavak detergens hatásának változásáról (csökkenéséről) lehet szó [12]. Az ólomacetátos módszerünk [8, 11, 41] széles körű használata tette lehetővé egyébként az endotoxin *in vivo* detoxifikálásának behatóbb vizsgálatát is [22, 24, 25, 26, 27].

Összefoglalva megállapítható, hogy az epesavak okozta fiziko-kémiai defenzióban a szervezetnek egy általános védekezési mechanizmusát ismertük meg, amely nem korlátozódik a bakteriális endotoxinokkal szembeni védelemre, hanem kiterjed mindazokra az ágensekre, melyek lipoproteid vagy lipid struktúrával rendelkeznek. A szervezet eddig ismert védekezési mechanizmusai mellé tehát felsorakoztathatjuk a szervezet fiziko-kémiai defenzióját is, melynek letéteményesei a májban termelődő és entero-hepatikus cirkulációban részt vevő epesavak. Természetesen a fiziko-kémiai defenzió részleteinek megismeréséhez még igen sok vizsgálatra van szükség. Eddigi vizsgálataink inkább csak felvetették, mintsem megoldották a problémákat, azaz inkább munkahipotézisek, mint tézisek. Reméljük azonban, hogy a további vizsgálatok mind több oldalról fogják megvilágítani és igazolni a szervezetnek ezt az igen fontos, de eddig nem ismert védekezési mechanizmusát.

IRODALOM

1. BALOGH, A., BERTÓK L. (1974) Experimente zur Abwehr des haemorrhagischen Schocks bei Hunden durch Vorbehandlung mit „strahlendetoxifiziertem Endotoxin“. *Langenbecks Arch. Chir. (Suppl) Chir. Forum.* **337**, 293–295.
2. BALOGH A., BERTÓK L., KOCSÁR L. (1973) Kísérletes acut peritonitis (septicus shock) kivédése detoxifikált endotoxin előkezeléssel. *Kísérl. Orvostud.*, **25**, 157–160.
3. BERCZI I., BEREZNAI T., BERTÓK L. (1966) Examination of swine and calf diseases due to *Escherichia coli*. Proc. IX. Internat. Cong. Microbiol. Moscow 443. p
4. BERCZI I., BEREZNAI T., BERTÓK L. (1968) Stability of the toxic and serological properties of *E. coli* endotoxin in the intestinal tract of rats. *Ann. Immunol. Hung.*, **12**, 123–125.
5. BERCZI I., BEREZNAI T., BERTÓK L., STIPKOVITS L. (1967) Neue Beiträge zur Pathophysiologie der *E. coli* bedingten Erkrankungen der Saugkälber. *Fortpfl. Haust.*, **3**, 400–405.
6. BERCZI I., BERTÓK, L., BEREZNAI T. (1966) Comparative studies on the toxicity of *Escherichia coli* lipopolysaccharide endotoxin in various animal species. *Canad. J. Microbiol.*, **12**, 1070–1071.
7. BERCZI I., BERTÓK L., BAINTRNER K., VERESS B. (1968) Failure of oral *Escherichia coli* endotoxin to induce either specific tolerance or toxic symptoms in rats. *J. Path. Bact.*, **96**, 481–483.
8. BERTÓK L. (1965) Patofyziologie chorob mladat, cyrolanich *E. coli*. *Veterinártsvi*, **15**, 298–299.
9. BERTÓK L. (1968) Effect of sulphhydryl compound on the lead acetate-induced endotoxin hypersensitivity of rats. *J. Bact.*, **95**, 1974–1975.

10. BERTÓK L. (ed) (1968) Conference on biochemistry, biology and immunology of bacterial endotoxins. *Ann. Immunol. Hung.* **12**, (Suppl) Medicina, Budapest.
11. BERTÓK L. (1968) Effect of endotoxin tolerance on the lead acetate-induced endotoxin hypersensitivity of rats. *J. Bact.*, **96**, 569—572.
12. BERTÓK L. (1973) Vizsgálatok az endotoxin *in vivo* detoxifikálásáról. Előadás a Magyar Immunológiai Társaság Vándorgyűlésén. Pécs.
13. BERTÓK L. (ed) (1973) Immunological and pathological effects of bacterial endotoxins. *Ann. Immunol. Hung.* **17**, (Suppl), Medicina, Budapest.
14. BERTÓK L., FEHÉR T. (1973—74) Nem közölt kísérletek.
15. BERTÓK L., KOCSÁR L. (1972) Studies on some biological properties of surfactant-treated endotoxin in rats. *Ann. Immunol. Hung.*, **16**, 77—81.
16. BERTÓK L., KOCSÁR L. (1972) Ionizáló sugárzással detoxifikált bakteriális endotoxin preparátum előállítása, a természetes ellenállóképességet fokozó hatásának kísérletes vizsgálata. *Izotóptechnika*, **11**, 543—548.
17. BERTÓK L., KOCSÁR L. (1974) Die Rolle des Endotoxin beim intestinalen Syndrom der Strahlenkrankheit. *Wiss., Z. Karl-Marx Univ.*, **23**, 65—66.
18. BERTÓK L., KOCSÁR L., VÁRTERÉSZ V., BEREZNAI T., ANTONI F. (1973) Eljárás ionizáló sugárzással detoxifikált bakteriális endotoxin (sugárendotoxid) előállítására. Szolgálati szabadalom Budapest.
19. BERTÓK L., KOBASZOVA T. (1974) Nem közölt kísérletek.
20. BERTÓK L., TÓTH B. (1963) Studies on the pathogenesis of the odema disease of swine I. The effect of purified lipopolysaccharide endotoxin of *Escherichia coli* on mice. *Acta Vet. Hung.*, **13**, 421—428.
21. BITSKEY B. (1972) Az epe endotoxin detoxifikáló hatásának vizsgálata patkányokban. Szakdolgozat (SzTF—OSSKI).
22. COOK, J. A., DILUZIO, N. R. (1973) Protective effect of cysteine and methylprednisolone in lead acetate-endotoxin induced shock. *Exp. Molec. Pathol.*, **19**, 127—130.
23. DEBY, G., DUPONT, G. NEURAY, J., JEUNIAUX, F. (1973) Irradiation X et sécrétion biliaire chez le rat *Arch. Internat. Physiol. Biochimie*, **81**, 542—543.
24. FILKINS, J. P. (1970) Decreased shock lethality in rats with surfactant-treated endotoxin. *Proc. Soc. Biol. Med.*, **136**, 466—468.
25. FILKINS, J. P. (1970) Bioassay of endotoxin inactivation in the lead-sensitized rat. *Proc. Soc. Biol. Med.*, **134**, 610—616.
26. FILKINS, J. P., BUCHANAN, B. J. (1973) Effects of lead acetate on sensitivity to shock, intravascular carbon and endotoxin clearances and hepatic endotoxin detoxification. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **142**, 471—475.
27. HELPER, K., TREJO, R. A. BRETTSCHEIDER, L., DILUZIO, N. R. (1973) Enhancement of endotoxin shock in the lead-sensitized subhuman primate. *Surgery, Gynecology, Obstetrics*, **136**, 593—601.
28. KISIDA E., BERTÓK L., KARIKA GY. (1974) Arteria mesenterica superior-shockos kutyák bélmosó folyadékának toxicitása *Kísér. Orvostud.*, **26**, 16—19.
29. KISIDA E., BERTÓK L., KARIKA GY. (1974) Toxicity of the peritoneal fluid in superior mesenteric artery occlusion *J. RES.*, **15**, 13—15.
30. KOCSÁR L., BERTÓK L., VARGA L. (1973) Double labeling of endotoxin with chromium and tritium. *Ann. Immunol. Hung.* **17**, 71—72.
31. KOCSÁR L., BERTÓK L., VÁRTERÉSZ V. (1969) Effect of bile acids on the intestinal absorption of endotoxin in rats *J. Bact.*, **100**, 220—223.
32. KOCSÁR L., BERTÓK L., VÁRTERÉSZ V., BEREZNAI T., MÉSZÁROS J. (1973) Eljárás újszülöttkori enterotoxémiák ellen felhasználható gyógyászati készítmény előállítására. Szolgálati szabadalom Budapest.
33. KOCSÁR L., BERTÓK L., VÁRTERÉSZ V. (1973) Function of bile acids in the intestinal absorption of endotoxin in rats. *Ann. Immunol. Hung.* **17**, (Suppl) 49—52.
34. KRÚDY E. (1973) Összehasonlító toxicitási vizsgálatok *Escherichia coli* endotoxinnal gerincesekben. Szakdolgozat (KLTE—OSSKI).
35. KRÚDY E., BERTÓK L. (1973) Ólomacetát hatása madarak endotoxin érzékenységére. Előadás a Magyar Immunológiai Társaság Vándorgyűlésén. Pécs.
36. McCABE, W. R., KREGER, B. E., JOHNS, M. (1972) Type-specific and cross reactive antibodies in Gram-negativ bacteremia. *N. Engl. J. Med.*, **287**, 261—266.
37. MOUWEN, J. M. V. M., SHOTMAN, A. J. H., WENSING, TH., KIJKUIT, C. J. (1972) Some biochemical aspects of white scours in piglets. *Tijdschr. Diergenesesk.*, **97**, 65—71.
38. NAGY Z., BERCZI I., BERTÓK L. (1968) Experimental data on the pathogenesis of odema disease of swine. Clinical picture, gross and microscopic lesions related to endotoxin shock *Zbl. Vet. Med.*, **15**, 504—511.

39. NOWOTNY, A. (1968) Recent problems of endotoxin research *Ann. Immunol. Hung.*, **12**, (Suppl) 15—39.
40. RUDBACH, J. A., ANACKER, R. L., HASKINS, W. T., JOHNSON, A. G., MILNER, K. C., RIBI, E. (1966) Physical aspects of reversible inactivation of endotoxin. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **133**, 629—631.
41. SELYE, H., TUCHWEBER, B., BERTÓK L. (1966) Effect of lead acetate on the susceptibility of rats to bacterial endotoxins *J. Bact.*, **91**, 884—890.
42. THEILER, M. (1957) Action of sodium deoxycholate on arthropodborne viruses. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **96**, 380—382.
43. VÁCÓ I. (1971) Biológiai detergentek szerepe az izotóppal jelzett bakteriális endotoxin felszívódásában. Szakdolgozat (KLTE—OSSKI) Budapest.
44. WESTPHAL, O., LÜDERITZ, O., BISTER, F. (1952) Über die Extraktion von Bakterien mit Phenol/Wasser. *7. Naturforsch.*, **7b**, 148—155.

PHYSICO-CHEMICAL DEFENSE SYSTEM

L. Bertók

“Frédéric Joliot-Curie” National Research Institute for Radiobiology and Radiohygiene
Budapest, Hungary

The bacterial lipopolysaccharide endotoxins are disintegrated into non-toxic fragments by deoxycholate treatment *in vitro*.

Rats with an artificial chronic bile fistula suffered fatal shock on oral administration of a dose of endotoxin not producing any symptoms in normal animals. The fatal shock was prevented by simultaneous oral administration of bile acids or bile.

The possible role of impaired bile secretion is discussed in the development of certain clinical conditions caused by enterotoxaemia (e.g. “Coli dyspepsia”) in human infants or newborn animals. The temporary disturbance of bile secretion may be of importance also in the intestinal syndrome associated with radiation disease. Improvement of these conditions was found on oral administration of bile acids in animal experiments.

Viruses with lipid-containing envelopes are known to be deoxycholate-sensitive. The possible role of bile in destroying such viruses in the intestines of humans or animals is stressed. On the basis of various experiments the author concludes that this defense mechanism resulting from the detergent action of bile acids may not be limited to protection against bacterial endotoxins.

The author proposes the designation “physico-chemical defense system” for the phenomenon outlined in the foregoing.

HIPOFÍZIS HORMONOK HATÁSA ÚJSZÜLÖTT PATKÁNY PAJZSMIRIGY SZERVTENYÉSZETEKRE

TÖRÖK OTILIA

Semmelweis Orvostudományi Egyetem Biológiai Intézete, Budapest

Beérkezett: 1976. december 16-án

Kulcsszavak: pajzsmirigy, szervtenyészet, szérumgonadotropin, TSH, ACTH

Bevezetés

A szervtenyésztés, illetve a szervek *in vitro* fenntartása lehetővé teszi, hogy a kivett explantált szerv további differenciálódását, fejlődését és funkcióját a szervezet belső környezetéből kiragadva vizsgáljuk. A kis gömbölyű szervek, mint amilyen pl. a pajzsmirigy, egészként is tenyészthetők [58]. Az *in vitro* feltételek mellett fenntartott endokrin szervek igen alkalmasak arra, hogy a médiumhoz adott különböző hormonoknak a szervere kifejtett közvetlen hatását tanulmányozzuk.

A patkány pajzsmirigy embrionális és posztembrionális fejlődését több szerző részletesen elemzi [7, 14, 17, 35, 40, 46, 47, 49, 51, 52, 62, 63]. Vizsgálataikból kitűnik, hogy a patkány pajzsmirigy follikulusok részben a pajzsmirigy-kezdemény sejtjeiből, részben az ultimobranchiális testből differenciálódnak.

Szervtenyésztésben a patkány pajzsmirigy morfológiáját és funkcióját többen vizsgálták [2, 9, 10, 21, 23, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 42, 43, 56], a szervet azonban hormonmentes médiumban tartották fenn. TONOUÉ és munkatársai [56] rövid ideig inkubálták TSH-tartalmú médiumban a patkány-pajzsmirigyét és mérték a leadott hormon mennyiségét.

Ismert, hogy a pajzsmirigy *in vivo* a hipofízis és a corpus pineale szabályozása alatt áll. Szervtenyésztésben a pajzsmirigy mentesül e mirigyek szabályozó, illetve gátló hatása alól.

Ismertesek olyan esetek, amikor a specifikus hormon hatását egy másik hormon átfedi, pl. az ACTH-nak a pigmentsejtekre MSH-szerű hatása van [4, 18]. Ez a jelenség a receptor nem tökéletes felismerőképességének tulajdonítható. Ilyen átfedő hatása van továbbá az MSH és TSH hormonnak is [5]. Az utóbbi évek vizsgálatai arra utalnak, hogy egy sejt több hormon-receptorral is rendelkezhet, akkor is, ha mindegyik hormon hatása a cAMP-rendszeren keresztül érvényesül [3]. A cAMP-mechanizmus az aminosav- és a polipeptid-típusú hormonok esetében működik. A hormonális szabályozás ezen kívül még közvetlen génaaktiválás, vagy még kevésbé ismert szabályozó mechanizmus által valósul meg [11].

Jelen kísérleteinkben azt vizsgáltuk, hogy az újszülött patkány pajzsmirigy esetében az ACTH, a TSH és a szérumgonadotropin rendelkeznek-e egymást átfedő hatással, illetve a pajzsmirigy sejtek morfológiai változásaiából következtethetünk-e a megfelelő hormon-receptorok jelenlétére.

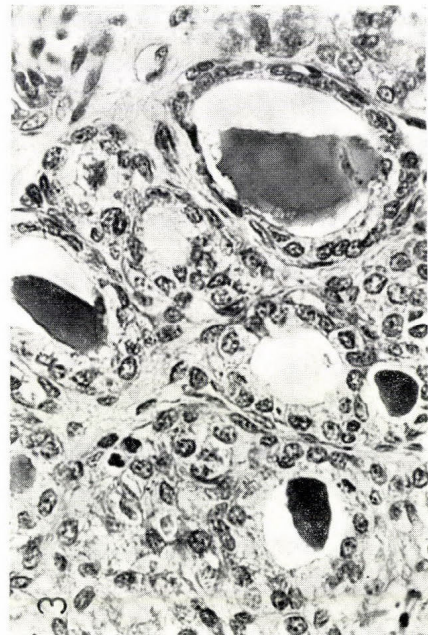
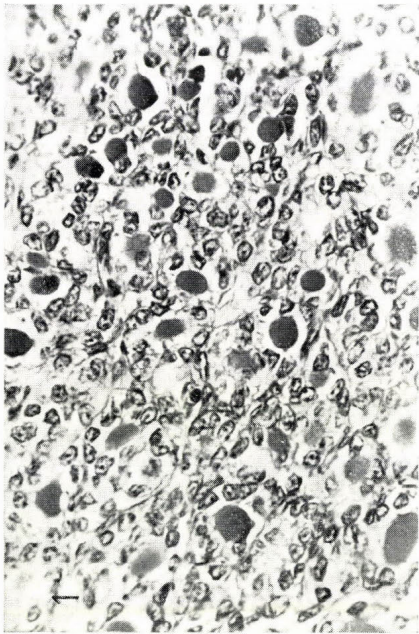
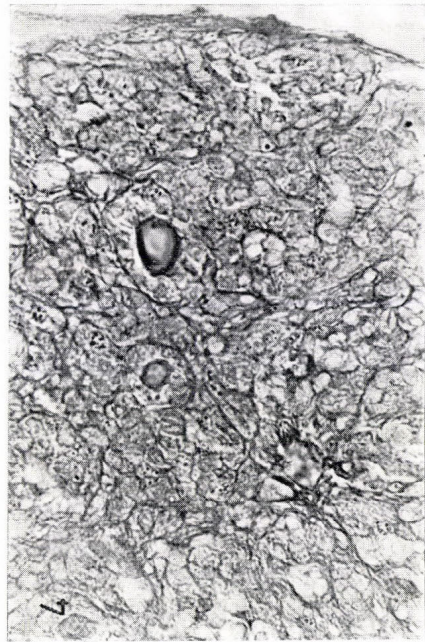
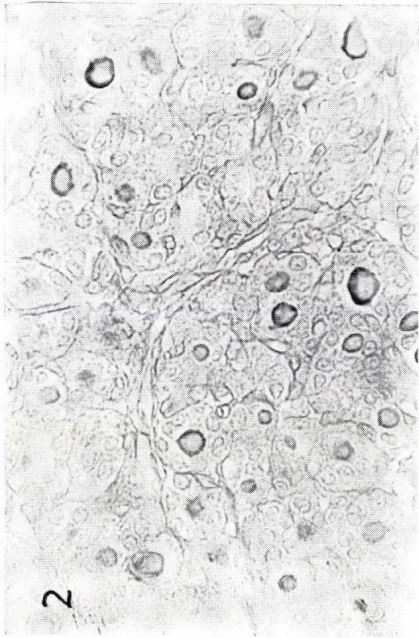
Vizsgálatainkhoz 46 db újszülött, 6 db 4-napos és 6 db 7-napos Wistar CB patkány pajzsmirigyét használtuk fel. 40 db újszülött patkány pajzsmirigyéből szervtenyészetet készítettünk a CHEN-féle technika szerint [10]. Minthogy újszülött állatban a pajzsmirigy állományába beágyazottan van jelen a mellékpajzsmirigy, ez utóbbit az explantálás előtt nem preparáltuk ki. Egy-egy pár pajzsmirigyét tettünk a tápfolyadék felszínén úszó Millipore filterre (0,45 mikron), melyet lencsepapírra helyeztünk, hogy a tápfolyadék felszínén maradjon. A tápfolyadék összetétele Trowell 8 médium és borjú-savó (Phylaxia) (8 : 2), továbbá 200 NE penicillin/ml volt. A szervtenyészeteiket két-, illetve háromnaponként Tyrode-oldatban leöblítettük, majd friss médiumra tettük. A szervtenyészeteiket a fenntartás idején 37 °C-os termosztátban tarottuk, speciális gázkeveréket nem alkalmaztunk. A tenyészetekből a 4. és a 7. napon fixáltunk. A szervtenyészetek egy részét csak közvetlenül a fixálás előtt inkubáltuk 30 percig hormont tartalmazó tápfolyadékban, másik részét hormont tartalmazó médiumban tartottuk fenn.

A következő hormonokat, illetve hormonkészítményeket használtuk vizsgálatainkhoz: TSH (Ambinon, Organon Oss Holland) 1 NE/ml; szérumgonadotropin (Gestyl, Organon Oss Holland) 3 NE/ml; ACTH (Corticotrophine, Organon Oss Holland) 1 NE/ml. A szervtenyészeteiket a fixálás előtt leöblítettük Tyrode-oldatban, majd Bouin fixáló keverékben fixáltuk. Ugyanakkor a 4- és 7-napos tenyészetekkel megegyező korú állatok pajzsmirigyét is fixáltuk, majd metszettük és festettük hasonló módon, az *in vitro* szervtenyészetben fenntartott pajzsmirigy és az *in vivo* pajzsmirigy összehasonlítása céljából. A fixált, parafinba ágyazott anyagokból 4—5 mikronos metszeteket készítettünk. A metszeten a következő festéseket, illetve hisztokémiai reakciókat végeztük el: hematoxilin-eozin (HE) festés, Gömöri-féle perjód-sav-Schiff reakció (poliszacharida kimutatásra) hematoxilines magfestéssel (PAS + H), Giemsa (0,5% oldat) festés az RNS tartalom-, foszformolibdén-sor-benzidin (FMS-B)-reakció [57] a szabad-hiszton kimutatására. A fentiek szerint feldolgoztunk újszülött állatokból kivett pajzsmirigyét is az explantált kezeletlen pajzsmirigyben bekövetkező változások megítéléséhez.

Eredmények

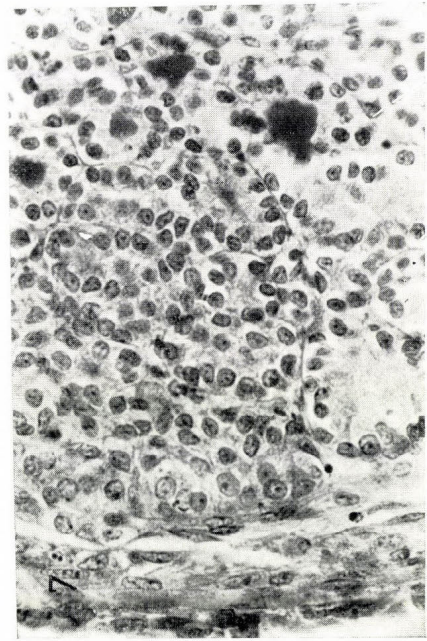
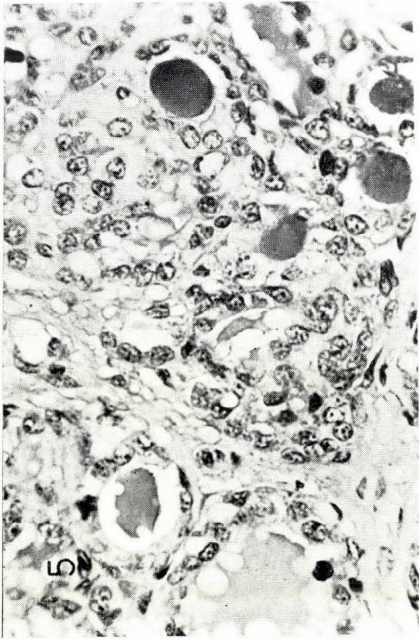
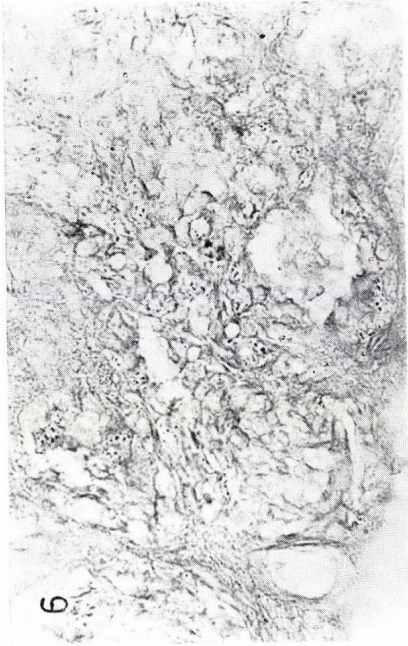
Az újszülött patkány pajzsmirigyében különböző alakú és méretű, differenciált folliculusok és differenciálatlan sejtesoportok figyelhetők meg. A széli zónában nagyobb folliculusok, míg a centrumban kisebb és primitív folliculusok figyelhetők meg (1. kép). Némely metszeten jól kitűnnek a több-rétegű hámból álló ultimobranchiális eredetűnek tartott sejtesoportok. A folliculusokat alacsonyabb köbhámsejtek alkotják. A folliculus-kolloid a perifériáján gyakran vakuolizált. A folliculusokat alkotó hámsejtek citoplazmájában is található kolloid. A mitózisok száma kevés. A C-sejtek is jól kivehetők a rózsaszín-piros citoplazma alapján. A szabad-hisztont kimutató FMS-B reakció lényegében negatívnak tekinthető (2. kép).

A 4-napos patkány pajzsmirigyében tágult acinusok vannak (3. kép), főleg a széli zónában, melyeket alacsony köbhámsejtek határolnak. Itt-ott található mitózisok. Egy-egy területen kevésbé differenciált acinusok vannak még jelen, körülöttük PAS-pozitív citoplazmájú sejtekkel. Az acinusok



KÉPJEGYZÉK

1. kép. Újszülött patkány pajzsmirigy (PAS + H). Nagyítás: $40 \times 4,1$
Fig. 1. Neonatal rat thyroid (PAS + H). $\times 40 \times 4,1$
2. kép. Újszülött patkány pajzsmirigy (FMS-B reakció). Nagyítás: $40 \times 4,1$
Fig. 2. Neonatal rat thyroid (FMS - B reaction). $\times 40 \times 4,1$
3. kép. 4-napos patkány pajzsmirigy (PAS + H). Nagyítás: $40 \times 4,1$
Fig. 3. Rat thyroid at 4 days of age (PAS + H). $\times 40 \times 4,1$
4. kép. 4-napos patkány pajzsmirigy (FMS-B reakció). Nagyítás: $40 \times 4,1$
Fig. 4. Rat thyroid at 4 days of age (FMS - B reaction). $\times 40 \times 4,1$
5. kép. 7-napos patkány pajzsmirigy (PAS + H). Nagyítás: $40 \times 4,1$
Fig. 5. Rat thyroid at 7 days of age (PAS + H). $\times 40 \times 4,1$
6. kép. 7-napos patkány pajzsmirigy (FMS-B reakció). Nagyítás: $40 \times 4,1$
Fig. 6. Rat thyroid at 7 days of age (FMS - B reaction). $\times 40 \times 4,1$
7. kép. Újszülött patkány pajzsmirigy 7-napos szervtenyészetben (PAS + H). Nagyítás: $40 \times 4,1$
Fig. 7. 7-day organ culture of neonatal rat thyroid (PAS + H). $\times 40 \times 4,1$
8. kép. Újszülött patkány pajzsmirigy 7-napos szervtenyészetben (FMS-B reakció). Nagyítás: $40 \times 4,1$
Fig. 8. 7-day organ culture of neonatal rat thyroid (FMS - B reaction). $\times 40 \times 4,1$



9. kép. Újszülött patkány pajzsmirigy 1 NE/ml TSH-t tartalmazó médiumban 7 napig fenntartott szervtenyészetben (PAS + H). Nagyítás: $40 \times 4,1$

Fig. 9. 7-day organ culture of neonatal rat thyroid maintained throughout in 1 IU/ml TSH-containing medium. (PAS-H). $\times 40 \times 4,1$

10. kép. A fenntartás 7. napján 1 NE/ml TSH-t tartalmazó médiumban 30 percig inkubált újszülött patkány pajzsmirigy szervtenyészet (PAS + H). Nagyítás: $40 \times 4,1$. (A nyilak a lakunákra mutatnak.)

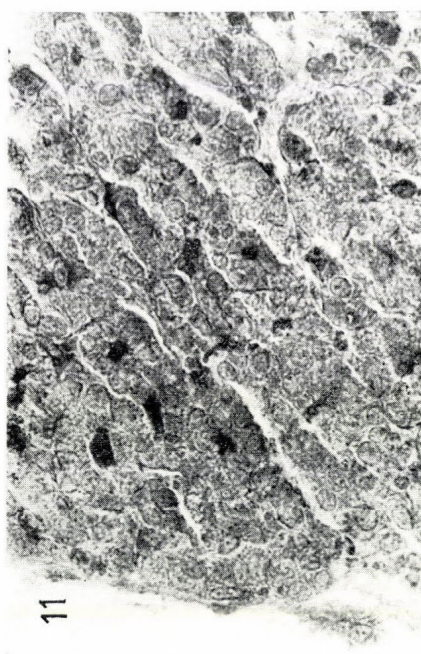
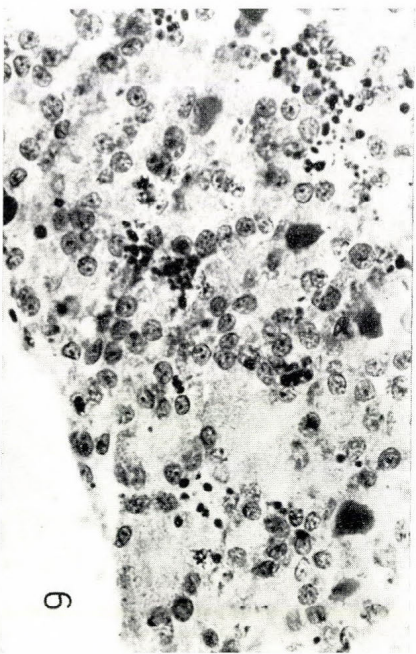
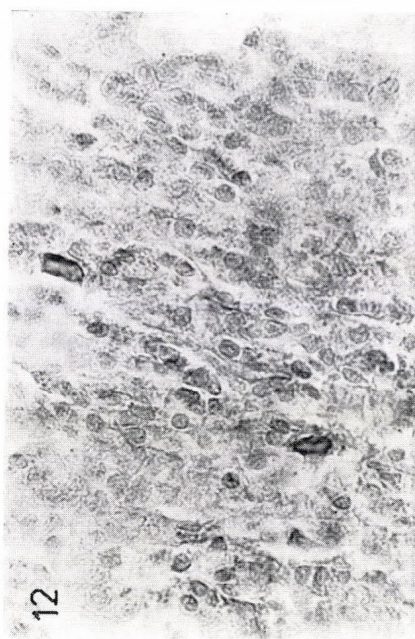
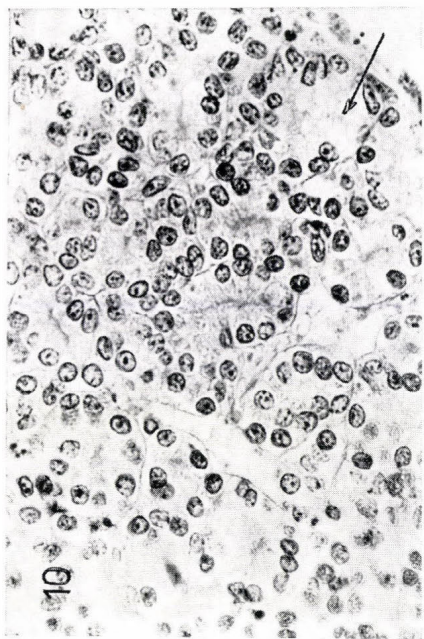
Fig. 10. Organ culture of neonatal rat thyroid after 30-min incubation in 1 IU/ml TSH containing medium at 7 days of culturing (PAS + H), $\times 40 \times 4,1$ (The arrows point to lacunae)

11. kép. 7 napig 1 NE/ml TSH-t tartalmazó médiumban fenntartott újszülött patkány pajzsmirigy szervtenyészet (FMS-B reakció). Nagyítás: $40 \times 4,1$

Fig. 11. 7-day organ culture of neonatal rat thyroid maintained throughout in 1 IU/ml TSH containing medium (FMS-B reaction). $\times 40 \times 4,1$

12. kép. A fenntartás 7. napján 1 NE/ml TSH-t tartalmazó médiumban 30 percig inkubált újszülött patkány pajzsmirigy szervtenyészet (FMS-B reakció). Nagyítás: $40 \times 4,1$

Fig. 12. Organ culture of neonatal rat thyroid after 30-min incubation in 1 IU/ml TSH containing medium at 7 days of culturing (FMS-B reaction). $\times 40 \times 4,1$



13. kép. 7 napig 3 NE/ml szérumgonadotropint tartalmazó médiumban fenntartott újszülött patkány pajzsmirigy szervtenyészet (PAS + H). Nagyítás: $40 \times 4,1$

Fig. 13. 7-day organ culture of neonatal rat thyroid maintained throughout in 3 IU/ml serum gonadotropin containing medium (PAS + H). $\times 40 \times 4,1$

14. kép. A fenntartás 7. napján 3 NE/ml szérumgonadotropint tartalmazó médiumban 30 percig inkubált újszülött patkány pajzsmirigy szervtenyészet (PAS + H). Nagyítás: $40 \times 4,1$

Fig. 14. Organ culture of neonatal rat thyroid after 30-min incubation in 3 IU/ml serum gonadotropin containing medium at 7 days of culturing (PAS + H). $\times 40 \times 4,1$

15. kép. 7 napig 3 NE/ml szérumgonadotropint tartalmazó médiumban fenntartott újszülött patkány pajzsmirigy szervtenyészet (FMS-B reakció). Nagyítás: $40 \times 4,1$

Fig. 15. 7-day organ culture of neonatal rat thyroid maintained throughout in 3 IU/ml serum gonadotropin containing medium (FMS-B reaction). $\times 40 \times 4,1$

16. kép. A fenntartás 7. napján 3 NE/ml szérumgonadotropint tartalmazó médiumban 30 percig inkubált újszülött patkány pajzsmirigy szervtenyészet (FMS-B reakció). Nagyítás: $40 \times 4,1$

Fig. 16. Organ culture of neonatal rat thyroid after 30-min incubation in 3 IU/ml serum gonadotropin containing medium (FMS-B reaction). $\times 40 \times 4,1$

17. kép. 7 napig 3 NE/ml ACTH-t tartalmazó médiumban fenntartott újszülött patkány pajzsmirigy szervtenyészet (PAS + H). Nagyítás: $40 \times 4,1$

Fig. 17. 7-day organ culture of neonatal rat thyroid maintained throughout in 3 IU/ml ACTH containing medium (PAS + H). $\times 40 \times 4,1$

18. kép. A fenntartás 7. napján 3 NE/ml ACTH-t tartalmazó médiumban 30 percig inkubált újszülött patkány pajzsmirigy szervtenyészet (PAS + H). Nagyítás: $40 \times 4,1$

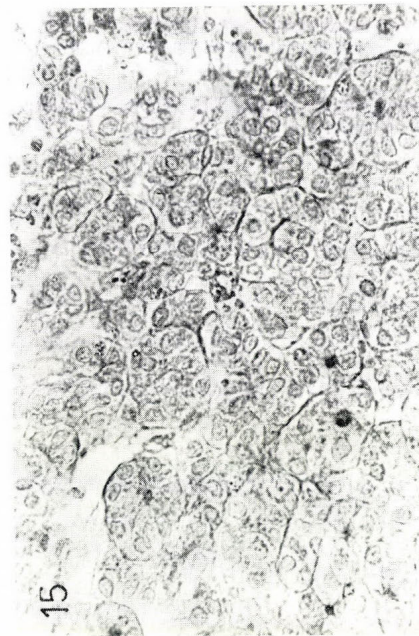
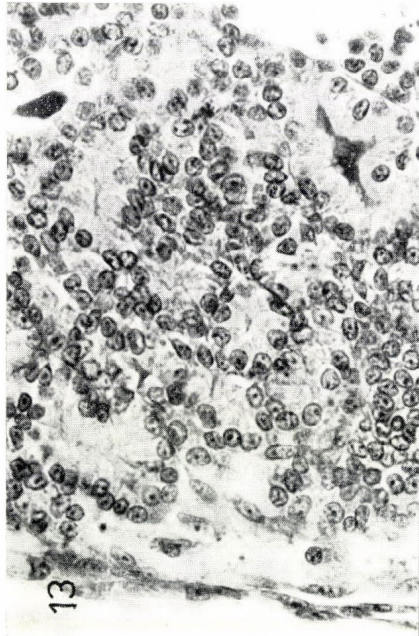
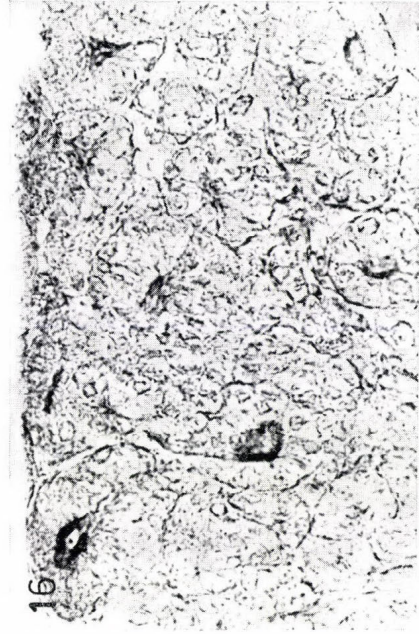
Fig. 18. Organ culture of neonatal rat thyroid after 30-min incubation in 3 IU/ml ACTH containing medium at 7 days of culturing (PAS + H). $\times 40 \times 4,1$

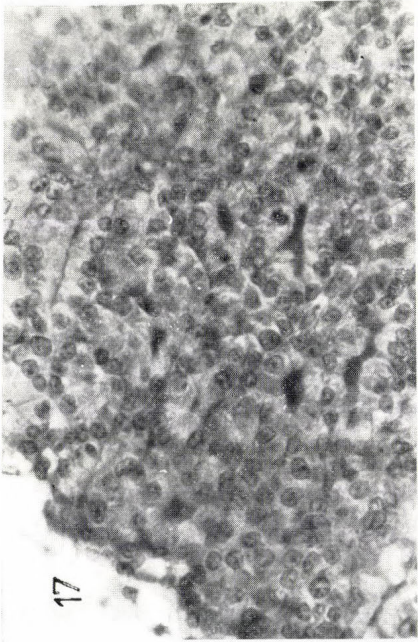
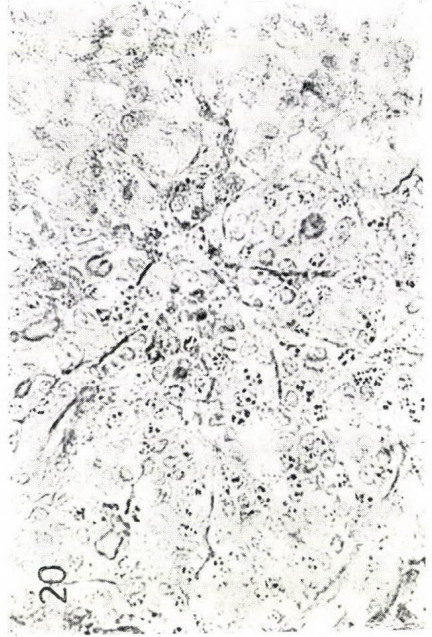
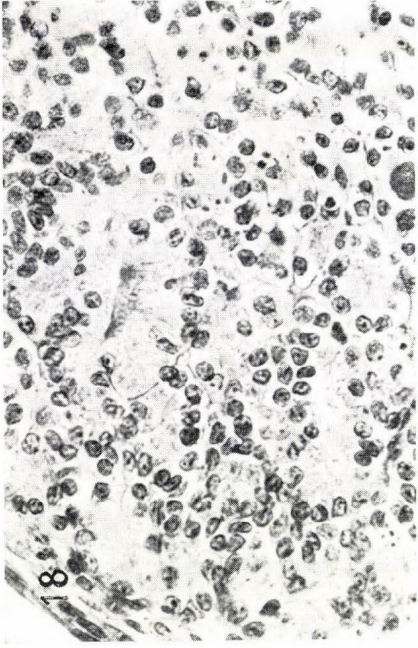
19. kép. 7 napig 3 NE/ml ACTH-t tartalmazó médiumban fenntartott újszülött patkány pajzsmirigy szervtenyészet (FMS-B reakció). Nagyítás: $40 \times 4,1$

Fig. 19. 7-day organ culture of rat thyroid maintained throughout in 3 IU/ml ACTH containing medium (FMS-B reaction). $\times 40 \times 4,1$

20. kép. A fenntartás 7. napján 3 NE/ml ACTH-t tartalmazó médiumban 30 percig inkubált újszülött patkány pajzsmirigy szervtenyészet (FMS-B reakció). Nagyítás: $40 \times 4,1$

Fig. 20. Organ culture of neonatal rat thyroid after 30-min incubation in 3 IU/ml ACTH containing medium at 7 days of culturing (FMS-B reaction). $\times 40 \times 4,1$





kolloidja a PAS-reakciót különböző intenzitással adja. A széli acinusok hámsajtjei Giemsa-festés után intenzívebb bazofiliát mutatnak, mint a centrális területen levők. A hízósejtek intenzív metakromatikus festődésük alapján jól kitűnnek. A széli acinusokban a kolloid mélyebb kékre festődött, mint a centrálisokon. Az FMS-B reakciót sok sejtmag adja (4. kép).

A 7-napos patkány pajzsmirigyében az acinusok különböző funkcionális stádiumban vannak. Egyes acinusokat alacsony, másokét magas köbhám határol (5. kép). A kolloid tömör, homogén és PAS-pozitív, míg másokban a kolloid pereme vagy az egész vakuolizált struktúrát mutat. Mitózis már nem, vagy csak elvétve fordul elő. A sejtmagok többsége eukromatikus szerkezetű. Giemsa-festés után jól kitűnnek a nagyobb számban előforduló hízósejtek az intenzíven festődött metakromatikus szemcséikkel. Az acinusok kolloidja különböző intenzitással festődik kékre. Az FMS-B reakciót adó sejtmagok száma még több mint a 4-napos patkány pajzsmirigyében (6. kép).

A 7-napos kontroll tenyészetben a pajzsmirigy szerkezete elég jól megtartott (7. kép). A centrumban kistokú nekrotikus terület keletkezett. Az extracelluláris kolloid mennyisége az acinusokban csökkent. A sejtek citoplazmája PAS-pozitív. A follikulusokat alkotó hámsajtjei magasabbak, mint a 7-napos állat nem explantált pajzsmirigyében a sejtmag bazális elhelyezkedésű, különösen az explantátum széli zónájában. A sejtmagok eléggé heterokromatikusak. Giemsa-festés után a szélső acinusok hámsajtjeiben intenzív a bazofília. Hízósejtek nem láthatók. A szabad-hisztion reakció negatív, illetve csak elvétve látunk pozitív sejtmagokat (8. kép).

A 7 napon át TSH-val kezelt tenyészetben az intracelluláris kolloid mennyisége és az acinusokban a kolloid több és erősebben PAS-pozitív, mint a csak 30 percig inkubáltban (9. és 10. kép) vagy a kontrollban. Ahol a pajzsmirigy kötőszöveti tokja megsérült a preparálás során, a kivándorolt sejtekből kialakult follikulusok és PAS-pozitív kolloid tartalmú sejtek ott is megfigyelhetők. Mitózisok vannak. A 30 perces TSH inkubálás után a parenhíma sejtekben PAS-negatív lakunák figyelhetők meg (10. kép). A TSH a kolloid rezorbeálását eredményezte. A szabad-hisztion reakció negatív volt mindkét esetben (11. és 12. kép).

A 7 napon át szérumgonadotropinnal kezelt szervtenyészetben a follikulusokat magas köb-, ill. hengerhámsajtjei határolják (13. kép). A sejtek magja eukromatikus, jól kivehető magvacskával. Az acinusok sokkal kevesebb kolloidot tartalmaznak, mint a tenyésztés végén 30 percig inkubált tenyészetben (14. kép). Szerkezetük jól kivehető. Mitózisok is megfigyelhetők ugyanúgy, mint a tenyésztés végén 30 percig inkubált pajzsmirigy tenyészetben. A pozitív szabad-hisztion reakció mindkét esetben csak néhány sejtmagban figyelhető meg (15. és 16. kép).

A 7 napon át ACTH-val kezelt szervtenyészetben az acinusok jól megőrizték szerkezetüket (17. kép). A kolloid tartalmuk különböző, mennyiségük több mint a 30 percig (18. kép) vagy a 4 napig kezeltben, és a szérumgonadotropinnal inkubáltban. Sok hámsajtjei citoplazmája PAS-pozitív, ami valószínűleg a reszorbeálódott vagy a szintetizált kolloidnak tulajdonítható. Mitózisok előfordulása elég gyakori. A szélső acinusok hámsajtjei intenzívebb bazofiliát adnak, mint a centrum felé elhelyezkedők. A szabad-hisztion reakciót sok sejtmag adja ugyanúgy, mint ez már a 4 napig kezeltben látható. A 30 percig inkubált tenyészetben is pozitív a reakció (19. és 20. kép).

Az újszülött patkány pajzsmirigyében a folliculusok szerkezete változatos, az életkor folyamán tovább differenciálódik. A 4-napos patkány pajzsmirigyében is található még kevésbé differenciált acinusok és mitózisok. A folliculusok differenciálódása azonban tovább folytatódik a perifériától a centrum felé. A 7-napos patkány pajzsmirigyében mitózis már nem, vagy csak elvétve fordul elő. Az extracelluláris kolloid homogén vagy vakuolizált szerkezete, az eukromatikus szerkezetű sejtmagok nagyobb száma, a pajzsmirigy fokozottabb működése mellett szól. DUSSAULT és LABRIE [12] vizsgálatai szerint patkányban a hipotalamusz-hipofízis tengely a születés utáni szakaszban egyidejűleg fejlődik. Eredményeikkel megmagyarázható az egyre nagyobb számban mutakozó pozitív szabad-hisztin reakció. Az újszülött pajzsmirigyében a néhány sejt magjában mutakozó pozitív szabad-hisztin reakció vagy az anyai TSH szint következményeként, vagy a születéskor bekövetkező jelentős TSH kijutással hozható kapcsolatba, mint az utóbbit FLORSHEIM és mt. [14] kimutatták. CARPENTER [8] megfigyelése szerint a főtális patkány pajzsmirigy már a 17. napon működni kezd.

A 7 napig *in vitro* fenntartott pajzsmirigyben a folliculus hámsejtek magasabbak, a kolloid mennyisége kevesebb, mint a megegyező korú állatban. Ezek a megfigyelések összhangban állnak CARPENTER és TARCHETTI [9], továbbá BAKKER és YOUNG [2], valamint TROWELL [58] eredményeivel. A centrális nekrozist az elégtelen anyagcsereviszonyok okozhatják.

A 7 napig TSH-val kezelt tenyészetben a TSH a folliculusok fejlődését nem befolyásolta, mint ez GAILLARD [15, 16] eredményeiből is kitűnik.

Az intracelluláris kolloidtartalom nagyobb, mint a kontrollban és a csak 30 percig inkubáltban. Feltételezhető, hogy a TSH előidézte a kolloid reszorbeálását a fokozottabb endocitózis révén vagy a kolloid termelését a cAMP-rendszeren keresztül. A TSH stimulálja az adenil-cikláz aktivitást a pajzsmirigy metszetben [22], pajzsmirigy homogenizátumban [38], valamint a diszpergált pajzsmirigy sejtekben [6, 24]. Az *in vivo* vizsgálatokban [27, 59] az injiciált TSH már 5 perc múlva fokozza az acinusok endocitózisát. Az *in vitro* TSH vizsgálatokban [37] egy órán belül kolloid reszorpciót, kolloid cseppek megjelenését idézi elő az acinus sejtek apikális területén. Tehát a pajzsmirigynek a TSH-ra adott válasza bekövetkezik a normál vérrellátástól és beidegzéstől izolált esetekben is, bár az *in vitro* végzett vizsgálatok a TSH-nak a pajzsmirigy hormon termelésére kifejtett hatására vonatkozóan a különböző szerzők eredményei ellentmondóak. Egyesek szerint [50] stimulálja a hormon kijutását *in vitro*, mások szerint [13, 36] nem. Igaz, hogy az előbbi szerzők 18 órán át, az utóbbi szerzők csak 3 órán át inkubálták TSH-val a pajzsmirigy sejteket. Valószínűleg ezzel magyarázható az eltérő hatás a 30 percig és a 7 napig inkubált tenyészetek között. A TSH-val végzett 30 perces inkubáció után lakunák képződését figyeltük meg a parenchima sejtekben. Az ilyen sejtrégiók PAS-negatívak. ROBERTIS [44] és JUNGUIRA [21] szerint a TSH előidézte fokozott proteolitikus enzim képződésének tulajdonítható a lakunák megjelenése. BAKKER-SAURER [1] TSH-val végzett 1 órás inkubáció után észlelt lakunákat a parenchima sejtekben. PETROVIC és PORTE [41] elektronmikroszkópos vizsgálata szerint ezek a lakunák nem a sejten belül vannak hanem a sejtek között. E lakunákat mikrobohyok határolják, tartalmuk pedig nem azonos a kolloiddal. SELJELID és mt. [48] szerint TSH stimu-

lusra az intakt folliculus sejtekben apikális pszeudopodiumok jelentek meg. MALAN és mt. [26] megfigyelése szerint a TSH aktiválja a pajzsmirigysejtek kolloidjának fagocitotikus felvételét. A pajzsmirigy hámsejtekben a kolloidhoz hasonlóan festődő cseppek eredetére vonatkozóan két hipotézis van. Néhány kutató szerint ezek a sejtkben priméren szintetizálódott kolloidnak tekinthetők, mely később a folliculus lumene felé szecernálódik [44, 45, 60], mások szerint a cseppek a folliculus lumenéből származnak, a kolloidból [27, 39, 61]. A klasszikus hisztológiai módszerekkel nem dönthető el, hogy csak az egyik vagy mindkét hipotézis helyes-e. Autoradiográfiás vizsgálat alkalmasabb lenne ennek tisztázására. CARPENTER és TARCHETTI [9] szerint már a 14 napos patkányembrió pajzsmirigyé szervtenyésztetben felveszi a ^{131}J -t. HILFER [20] 16-napos patkányembrió disszociált pajzsmirigytenyésztetben megfigyelt mono-jódtirozint (MJT), dijódtirozint (DJT), trijódtirozint (T3) és tirozint (T4), a 14 napos tenyésztés ideje alatt. A jódayagcsere egyes szerzők szerint [8, 9, 33] az embrionális élet 17—17,5 napján, mások szerint [19] a 18—19 napos patkányembrióban detektálható először. Amikor ebben a stádiumban explanálták a pajzsmirigyét szervtenyésztésként és TSH-t adtak a médiumhoz, nemcsak a MJT-nak DJT-é átalakulása, hanem a pajzsmirigy hormon képződése is meggyorsult [29, 30]. A TSH hatására [25, 53, 54, 56] nő a sejtmembrán permeabilitása, fokozott a cAMP termelés, a DNS-től függő RNS szintézis és nő a protein szintézis, számos mikroboholy jelenik meg. TONG szerint a TSH-ra adott válasz először abban nyilvánul meg, hogy a folliculus-sejtek reszorbeálják a tireoglobulint a folliculus lumenéből. TONG [55] vizsgálataiból kitűnik, hogy a diszpergált pajzsmirigy sejtek TSH-ra való reagálási képessége a jódayagcserét, a protein szintézist, a foszfolipid szintézist és a glukóz oxidációt vizsgálva a monolayer tenyésztetben is megmarad.

A negatív szabad-hiszton reakció amellet szól, hogy a TSH alacsonyabb dózisban alkalmazva (1 NE/ml) nem volt jelentős hatással a sejtekre, közelebb-ről ezek RNS szintézisére. A 7 napig szérumgonadotropin-tartalmú tápfolyadékban fenntartott pajzsmirigyben a szabad-hiszton jelenlétét valószínűleg a hormon kisfokú génindukciós hatása okozta. A mitózisok jelenléte és a magas acinushám a hámsejtekre kifejtett stimuláló hatását támasztja alá jelen esetben. Ismert, hogy a hormonoknak különböző fenotipikus hatása van a különböző szervekre, szövetekre. A kísérletek alapján elképzelhető, hogy az external coat mintázatába a specifikus hormonon, a TSH-n kívül más is beleillik [11].

A 7 napig ACTH tartalmú tápfolyadékban fenntartott pajzsmirigy sejteiben a gyakori mitózis, továbbá sok sejt magjában a szabad-hiszton jelenléte — mind a 4 napig, mind pedig a 7 napon át inkubáltban — az ACTH-nak a nem target sejtekre kifejtett hatását támasztja alá. Ebben az esetben is fennállhat a lehetősége annak, hogy az external coat mintázatába az ACTH hormon is beleillik, de erre semmi közvetlen bizonyíték nincs.

Összefoglalás

Újszülött patkány pajzsmirigyében a folliculusok morfológiai és funkcionális szempontból tovább differenciálódnak az életkor folyamán. Az *in vitro* fenntartott szervtenyésztetben a folliculus hámsejtek magasabbak, az extracelluláris kolloid tartalmuk kisebb, mint a tenyésztetel megegyező korú állat pajzsmirigyében. Ugyanakkor a hipofízis hormonokat tartalmazó médiu-

mokban fenntartott vagy utólag kezelt tenyészetekre az ACTH volt a legfel-
tűnőbb hatással. A szerző az irodalmi adatok alapján elemzi a TSH *in vitro*
hatásmechanizmusát, a szérumgonadotropin kisfokú génindukciós hatását, ill.
a pajzsmirigyre *in vitro* kifejtett fenotipikus hatását, továbbá az ACTH-nak
a pajzsmirigy sejtekre, mint nem célsejtjeire kifejtett hatását.

IRODALOM

1. BAKKER, T. G., SAUER, E. K. (1957) *Schildkierweafsals en Thyreotroop hormoon*. Thesis Leiden.
2. BAKKER, T. G., YOUNG, B. A. (1973) Organ Culture of Rat Thyroid Gland. *Experientia*, **29**, 1548–1550.
3. BIRNBAUMER, L., POHL, S. L., MICHEL, H., KRAUS, J. and RODBELL, M. (1970) The actions of hormones on the adenyl cyclase system. *Adv. Biochem. Psychopharmacol.*, **3**, 185–197.
4. BITENSKY, M. W., GORMAN, R. E. (1972) Chemical mediation of hormone action. *Ann. Rev. Med.*, **23**, 263–284.
5. BOWERS, C. Y., REDDING, T. W., SCHALLY, A. V. (1964) Effects of alfa and beta-melanocytin stimulating hormones and other peptides on the thyroid in mice. *Endocrinol.*, **74**, 559–566.
6. BURKE, G., CHANG, L. L., SZABÓ, M. (1973) Thyrotropin and cyclic nucleotide effects on prostaglandin levels in isolated thyroid cells. *Science*, **18**, 872–875.
7. CALVERT, R. (1972) Electron microscopic observations on the contribution of the ultimobranial bodies to thyroid histogenesis in the rat. *Am. J. Anat.*, **133**, 269–289.
8. CARPENTER, E. (1959) Development of fetal rat thyroid with special reference to uptake of radioactive iodine. *J. Exp. Zool.*, **142**, 246–247.
9. CARPENTER, E., RONDON-TARCHETTI, T. (1957) Differentiation of embryonic rat *in vivo* and *in vitro*. *J. Exp. Zool.*, **136**, 394–417.
10. CHEN, J. M. (1954) The cultivation in fluid medium of organised liver, pancreas and other tissues of foetal rats. *Exp. Cell. Res.*, **7**, 518–529.
11. CSABA, GY. (1974) A sejtműködés szabályozása. In: CSABA GY. (ed.): *A biológia aktuális problémái*. I. köt. Medicina, Budapest, 7–44.
12. DUSSAULT, J. H., ABRIE, F. (1975) Development of the hypothalamic-pituitary-thyroid axis in the neonatal rat. *Endocrinol.*, **97**, 1321–1324.
13. ENSOR, J., MUNRO, D. S. (1969) A comparison of the *in vitro* actions of TSH and cyclic AMP on the mouse thyroid gland. *J. Endocr.*, **43**, 477–485.
14. FLORSHEIM, W., FAIRCLOTH, M. A., CORCORAN, N. L., RUDKO, P. (1969) perinatal thyroid function in the rat. *Acta Endocrinol. (Kbh)*, **52**, 375–382.
15. GAILLARD, P. J. (1952) Ontwikkelingsverschijnselen in gekweekt embryonale schildklierweefsel. *Versl. Gewone Vergad. Akad. Amst.*, **61**, 27.
16. GAILLARD, P. J. (1953) Growth and differentiation of explanted tissues. *Int. Rev. Cytol.*, **2**, 331–401.
17. GELOSO, J. P., HEMAN, P., LEGRAND, J. and JOST, A. (1968) Some aspects of thyroid physiology during the perinatal period. *Gen. Comp. Endocrinol.*, **10**, 191–197.
18. GESCHWIND, I. I. (1959) Chemistry of melanocyte-stimulating hormones. In: GROBMAN, A. (ed.): *Comparative endocrinology*, Wiley et sons, New York.
19. GROBMAN, A. and EVANS, H. M. (1943) Beginning of function in the thyroid of fetal rat. *Endocrinol.*, **32**, 113–115.
20. HILFER, R. (1962) The stability of embryonic chick thyroid cells *in vitro* as judged by morphological and physiological criteria. *Dev. Biol.*, **4**, 1–21.
21. JUNGUEIERA, L. C. (1947) Action *in vitro* of thyrotropic hormone and iodide on thyroid cells. *Endocrinol.*, **40**, 286–291.
22. KANEKO, T., ZOR, U. and FIELD, J. B. (1969) thyroid stimulating hormone and prostaglandin E₁ stimulating of cyclic 3'5'-adenosine monophosphate in thyroid slides. *Science*, **163**, 1062–1063.
23. KETELBANT, P., BALASSE, P. (1973) Scanning electron microscope observations of apical surfaces dog thyroid cells. *Exp. Cell. Res.*, **79**, 111–119.
24. KNOPP, I., STOLC, V. and TONG, W. (1970) Evidence for the induction of iodide transport in bovine thyroid cells treated with thyroid stimulating hormone or dibutyl cyclic adenosine 3'5'-monophosphate. *J. Biol. Chem.*, **245**, 4403–4408.

25. KNOPP, J., STOLC, V. and TONG, W. (1971) The dynamics of certain responses of bovine thyroid cells to the addition and the withdrawal of TSH. In: FELLINGER, K. and R. HÖFER (ed.): *Further Advances in thyroid research*. Vienna Academy of Medicine, Vienna 311–318.
26. MALAN, P. G., STRANG, J. and TONG, W. (1974) TSH initiation of hormone secretion by rat thyroid lobes in vitro. *Endocrinol.*, **96**, 397–405.
27. NADLER, N. J., SARKER, S. K. and LEBLOND, C. P. (1962) Origin of intracellular colloid droplets in the rat thyroid. *Endocrinol.*, **71**, 120–129.
28. NADLER, N. J., YOUNG, B. A. and coll. (1964) Elaboration of thyroglobulin in the thyroid follicle. *Endocrinol.*, **74**, 334–354.
29. NATAF, B. M. and CHAIKOFF, I. L. (1965) The effect of insulin on iodine metabolism of fetal thyroid glands in organ culture. *Biochim. Biophys. Acta*, **111**, 422–428.
30. NATAF, B. M., RIVERA, M. and CHAIKOFF, I. L. (1965) Role of thyrotropic in iodine metabolism of embryonic rat thyroid glands in organ culture. *Endocrinol.*, **76**, 33–42.
31. NATAF, B. M., CHAIKOFF, I. L. and FREEMAN, W. E. (1967) Mechanism of action of TSH studied organs culture of fetal rat thyroid gland. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **124**, 7–12. Follicle. *Endocrinol.*, **74**, 334–354.
32. NATAF, B. M. (1968) Fetal rat thyroid gland in organ culture. *Gen. Comp. Endocrinol.*, **10**, 159–173.
33. NATAF, B. M., HAREL, J. and IMBENOTTE, J. (1971) Effect of thyrotropic hormone on thyroid glands of the fetal and newborn rat. *Hormones in Development*, **61**, 781–792.
34. NATAF, B. M., IMBENOTTE, J., FRIDE, J. and HAREL, J. (1972) Comparative effects of TSH and of insulin on fetal rat thyroid gland maintained in organ culture. *Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.*, **140**, 986–991.
35. NEVE, P. and WOLLMAN, S. H. (1971) Fine structure of ultimobranchial follicles in the thyroid gland of the rat. *Anat. Rec.*, **171**, 259–272.
36. OCHI, J. and DE GROOT, L. J. (1969) effect of adenine nucleotides on thyroid hormone release *in vivo* and *in vitro*. *Metabolism.*, **18**, 331–338.
37. PASTAN, I. and KATZEN, R. (1967) Activation of adenylyl cyclase in thyroid homogenates by thyroid stimulating hormone. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **29**, 792–798.
38. PASTAN, I. and WOLLMAN, S. H. (1967) Colloid droplet formation in dog thyroid *in vitro*. *J. Cell. Biol.*, **35**, 262–266.
39. PELLETIER, G. R., PUVIANI and DUSSAULT, J. H. (1976) Electron microscope immunohistochemical localization of thyroglobulin in rat thyroid gland. *Endocrinology*, **98**, 1253–1259.
40. PETKÓ, M. (1975) Morphological and histochemical changes of ultimobranchial follicles of the rat thyroid in the course of postnatal life. *Acta Morph. Acad. Sci. Hung.*, **23**, 123–131.
41. PETROVIC, A. and PORTE, A. (1961) Sur la formation, en culture organotypique de lacunes intercellulaires dans la thyroïdostimuline. *C. R. Soc. Biol. Paris*, **155**, 1848–1855.
42. PETROVIC, A. G. (1972) Life span of a colloid droplet as revealed by phase contrast microcinematographic study of a rat thyroid explant in organ culture. *J. Cell. Biol.*, **55**, 202.
43. PETROVIC, A. and PORTE, A. (1973) Organ culture of the rat thyroid gland. *Experientia*, **29**, 1548–1550.
44. ROBERTIS, E. DE (1941) Proteolytic enzyme activity of colloid extracted from single follicle of the rat thyroid. *Anat. Rec.*, **80**, 219.
45. ROBERTIS, E. DE (1942) Intracellular colloid in the initial stages of thyroid activation. *Anat. Rec.*, **84**, 125–135.
46. ROGERS, W. M. (1972) The fate of the ultimobranchial body in the white rat. (*Mus norvegicus albinus*.) *Am. J. Anat.*, **38**, 349–377.
47. RONDON-TARCHETTI, T. (1952) Differentiation of the albino rat embryo thyroid *in vivo* and *in vitro*. *Anat. Rec.*, **113**, 567.
48. SELJELID, R. and NAKKEN, K. F. (1968) Endocytosis of thyroglobulin and the release of thyroid hormones. *Scand. Clin. Lab. Invest.* **106**, (Suppl.) 125–143.
49. SEYMOUR, H., WOLLMAN, S. H. and NEVE, P. (1971) Postnatal development and properties of ultimobranchial follicles in the rat thyroid. *Anat. Rec.*, **171**, 247–258.
50. SHIMODA, S. I. (1965) Natural of Intrathyroidal Iodinated Substances Released Into the Medium During *in vitro* Incubation of Prelabeled Whole Rat Thyroid Lobes. *Endocrinol.*, **77**, 1135–1139.
51. STOECKEL, M. E. and PORTE, A. (1967) Origine embryonnaire et différentiation sécrétoire des cellules à calcitonine (cellules) dans la thyroïde foetale du rat. Étude and microscope électronique. *Zellforsch.*, **106**, 251–268.
52. SUGIYAMA, S. (1940) The fate of the ultimobranchial body of the albino rat with special reference to the formation of the thyroid gland. *Okajima Folia Anat. Jap.*, **19**, 333–341.

53. TONG, W. (1971) Actions of thyroid-stimulating hormone. *In: Handbook of Physiology and Endocrinology* III. U.S.A. Chapter, 16, 255—278.
54. TONG, W. (1972) Preparation and properties of isolated thyroid cells. *In: RALL and KOPIN (eds.): The thyroid and biogenic amines* North Holland Publ. Comp., Amsterdam—London. Chapter, 5. 63—81.
55. TONG, W. (1975) *Methods in enzymology, Hormone Action*, vol. 37. Academic Press, New York, 745.
56. TONOUE, T., TONG, W. and STOLC, V. (1970) TSH and dybutyryl cyclic AMP stimulation of hormone release from rat thyroid glands *in vitro*. *Endocrinol.*, **86**, 271—277.
57. TÖRÖK, L. J. és KOVÁCS, L. (1970) Foszfomolibdén-sav-benzidin módszer szabad-hisztonok kimutatására. *Biológiai Közlem.*, **18**, 3—13.
58. TROWELL, O. A. (1959) The culture of nature organs in a synthetic medium. *Exp. Cell Res.*, **16**, 118—147.
59. WETZEL, B. K., SPICER, S. S. and WOLLMAN, S. H. (1965) Changes in fine structure and acid phosphates localization in rat thyroid cells following thyrotropin administration. *J. Cell. Biol.*, **25**, 593—618.
60. WISSING, S. L. (1963) The anatomy of secretion in the follicular cells of the thyroid gland. II. The effect of acute thyrotropic hormone stimulation on the secretory apparatus. *J. Cell. Biol.*, **16**, 93—117.
61. WOLLMAN, S. H. and SPICER, S. S. (1961) Intracellular colloid droplets in the thyroid gland. *Fed. Proc.*, **20**, 201.
62. WOLLMAN, S. H. and NEVE, P. (1971) Postnatal development and properties of ultimobranchial follicles in the rat thyroid. *Anat. Rec.*, **171**, 247—258.
63. ZUCKERKANDL, E. (1903) Die Entwicklung der Schilddrüse und der Thymus bei der Ratte. *Anat. Hefte*, **21**, 1—28.

EFFECT OF HYPOPHYSEAL HORMONES ON ORGAN CULTURES FROM NEWBORN RAT THYROID

O(tilia) Török

Department of Biology, Semmelweis University of Medicine
Budapest, Hungary

In thyroid organ cultures the acinar cells are taller and the colloidal mass is less than in the intact animal of the same age.

The effects of TSH, serum gonadotropine or ACTH were studied on the acinar cell morphology, intracellular colloid content, follicle count, PAS-reaction and free histone content in thyroid organ cultures of newborn rats. The hormones were present for 7 days or for 30 min. at the end of a 7-day cultivation period. Untreated cultures served as controls.

In organ cultures cultivated for 7 days with TSH, the intracellular colloid content and the follicle count were higher than in cultures incubated for 30 minutes with TSH or in controls. The free histone reaction was negative in all cases.

As compared to the controls, no conspicuous differences were seen in the parameters studied in cultures treated with serum gonadotropine for 7 days of 30 min. Positive free histone reaction was observed only in a few nuclei in the treated cultures.

Out of the hypophyseal hormones examined, ACTH was found to have the most remarkable effects independently of the duration of hormone exposure.

The colloid content of the follicles was diverse, but always higher than in the control cultures, or in those incubated for 30 minutes or for 4 days with serum gonadotropine.

Many epithelial cells had PAS-positive cytoplasm. This was due either to resorption or to de novo synthesis of colloid. The free histone reaction was positive in many nuclei already at 30-min. treatment with ACTH.

The mechanism of action of TSH *in vitro* is discussed. The moderate influence of serum gonadotropine on gene induction and the phenotypic expressions there of are described in thyroid organ cultures. The marked influence of ACTH on non-traget cells is printed out.

ADATOK A FAGYTŰRŐ (MIRANOVSKAJA 808) ÉS FAGYÉRZÉKENY (PENJAMO 62) BÚZAJAJTÁK ZSÍRSAV ANYAGCSERÉJÉHEZ

FARKAS TIBOR, BELEA ADONISZ, VIGH LÁSZLÓ ÉS HORVÁTH IBOLYA
MTA Szegedi Biológiai Központ Biokémiai és Genetikai Intézete, Szeged

Beérkezett: 1977. január 25.

Kulcsszavak: fagyállóság, membrán, foszfolipid, zsírsavak

Bevezetés

Az utóbbi években megjelent számos irodalmi adat arra enged következtetni, hogy a növények fagyállósága membrán-lipidjeik fizikai-kémiai sajátosságaiával kapcsolatos.

Az életműködések szempontjából nagyon fontos, hogy ezeknek a struktúráknak fizikai-kémiai állapota olyan legyen, hogy azokon a különböző folyamatok megfelelő sebességgel játszódhassanak le. Bizonyítékok vannak arra, hogy az élő szervezetek membrán-lipidjei a működési hőmérsékletükön ún. „laterális fázis szeparálódás” állapotában vannak [7, 9, 19]. Ilyenkor a szilárd-gél és a folyékony-kristályos állapotban levő foszfolipidek egyidejűleg vannak jelen. A membránstruktúrák akkor nagyfokú rugalmassággal rendelkeznek. Ez az állapot megkönnyíti az újonnan szintetizált proteinek beépülését a membránba, biztosítja a carrierek membránon keresztül való áthaladását és megfelelő környezettel segíti a struktúrákhoz kötött enzimek működését [19]. Nyilvánvaló ez egy igen dinamikus szerkezet, melyben a folyamatokat a szilárd-gél és a folyékony-kristályos állapotban levő lipidek aránya alapvetően befolyásolja. Mivel multikomponensű rendszerekről van szó, az is valószínű, hogy a fázisszeparálódás egy aránylag széles hőmérsékleti intervallumon jelentkezik, melynek alsó határértéke a megfelelő fizikai eljárásokkal mért fázisváltás. E hőmérséklet alatt a membrán-lipidek túlnyomó többsége szilárd-gél állapotban van. Kimutatták, hogy a fagyérzékeny növényekben e hőmérsékleti érték magasabb, mint a fagyűrő fajtákban [11, 13, 15, 23].

Feltételezzük, hogy a fagyérzékeny és fagyűrő búzafajták zsírsav-anyagcsereje jellegzetesen különbözik egymástól, és éppen ezek az eltérések határozzák meg az alacsonyabb hőmérsékletre való viszonyukat. E dolgozatban egy közismerten fagyálló (Miranovskaja 808) és egy fagyérzékeny (Penjamo 62) búzafajta zsírsav összetételét és zsírsav anyagcserejét vizsgáljuk a hőmérséklet változásainak függvényében.

Vizsgálati anyag és módszer

1. Növények. A kísérletekhez a Miranovskaja 808 (M. 808) és a Penjamo 62 (P. 62) fajtákat az SZBK Genetikai Intézetének fajtagyűjteményéből vettük. A szemeket szántóföldi és laboratóriumi körülmények között (24—25 °C) csíráztattuk, illetve neveltük. A fiatal növények mintavételekor 2-leveles állapotban voltak.

2. *Reagensek.* Vizsgálatainkhoz [$1-^{14}\text{C}$]-nátrium acetátot (sp.a. 58,1 mCi · mmol⁻¹), [$1-^{14}\text{C}$]-laurinsavat (sp.a. 10 mCi · mmol⁻¹), [$1-^{14}\text{C}$]-palmittinsavat (sp.a. 59,9 mCi · mmol⁻¹), [$1-^{14}\text{C}$]-sztearinsavat (sp.a. 59,0 mCi · mmol⁻¹) és [$1-^{14}\text{C}$]-linolsavat (sp.a. 59,8 mCi · mmol⁻¹), valamint analitikai tisztaságú oldószereket használtunk. A gáz- és rétegekromatográfiás eljárásokhoz alkalmazott reagenseket a megfelelő helyen ismertetjük.

3. *Csíránövények jelölése in vivo.* A növényekbe juttatandó radioaktív anyag fajlagos aktivitását megfelelő hideg hordozóval 1 mCi · mmol⁻¹-ra állítottuk be. Majd a zsírsavakból titrálással K-sójukat képeztük. A szappanoldat térfogatát úgy állítottuk be, hogy az minden mikroliterében 1×10^5 dpm-et tartalmazzon. A növények hypocotyljébe egy 10 μl -es Hamilton-fecskendővel 2 μl -t (kb. 0,1 μCi -t) juttattunk be, majd a növényeket a kívánt hőmérsékleten különböző ideig inkubáltuk. A kísérleti idő lejártával a mintákat folyékony levegőbe mártottuk, majd homogenizáltuk.

4. *Csíránövények jelölése in vitro.* A növények leveleit zsilettpengével kb. 0,5 mm-es darabokra vágtuk, majd a szeletkéket 0,1 M K-foszfát pufferben (pH 7,5) — amely 0,25 M szukrózt is tartalmazott — inkubáltuk. A radioaktív anyagokat ehhez a médiumhoz adtuk.

5. *Lipidek kinyerése.* A homogenizálást általában kloroform-metanol 2 : 1 arányú elegyében, Potter-homogenizátor felhasználásával végeztük. Abban az esetben, amikor a levelekben egyébként igen aktív foszfolipáz-D aktivitását minimális értéken akartuk tartani, a szeletkéket forró izopropilalkoholba néhány percig bemártottuk, hogy az enzimet előzetesen inaktíváljuk. A lipid-extraktum tisztítását a szokásos technikával végeztük.

6. *Gázkromatográfiás elválasztások.* A metilésztereket 5% HCl tartalmú alkoholos metanollal történő átmetilezéssel állítottuk elő. A reakciót indifferens atmoszférában lezárt kémcsövekben 80 °C-on végeztük. A gáz-kromatográfiás elemzések előtt a metilésztereket vékonyréteg lapkromatográfiás módszer segítségével tisztítottuk. A szilikagél G-én való futtatás után csak a metilészterek foltját kapartuk le és elemeztük. A vizsgálatok egy lángionizációs detektorral ellátott JEOL—JGC 1100 készüléken történtek. Megosztófázisként 15% DEGS-t, 15% EGSS-X vagy 13% EGSS-Y-t használtunk, melyet GASCHROM P/100—120 mesh/-re vittük fel.

7. *Radioaktivitás mérése.* TRI—CARB Liquid Scintillatios Spectrometert használtunk a mérésekhez, mely a ^{14}C -t 92%-os hatékonysággal mérte.

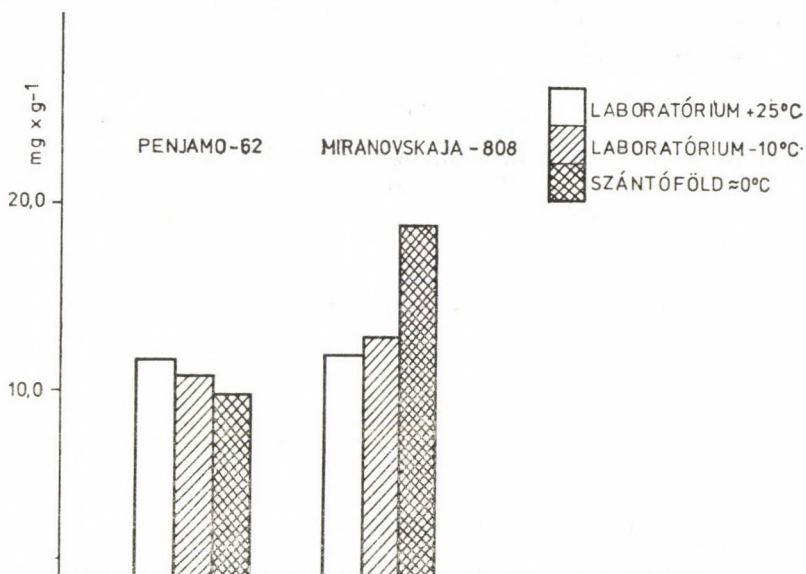
8. *Kromatogramok értékelése.* A csúcsokat megfelelő standardok segítségével azonosítottuk. Felhasználtuk ezenkívül a relatív retenciós idő logaritmusa és a lánchosszúság között fennálló összefüggést. A mennyiségi meghatározásokat triangulációs technikával végeztük.

9. *Összlipidek meghatározása.* Az összlipidek értékelése egy Beckmann LM 800-as ultramikro mérlegen, a kloroform extraktum 100 μl -ének súlymérésével történt.

Kísérleti eredmények

1. Hőmérséklet hatása a csíránövények összlipid tartalmára

A növények leveleiben a lipidek valamely membrán-struktúrához (mitochondrium, endoplazmatikus retikulum, plasztiszok stb.) kapcsolódva fordulnak elő. A zsírtartalom általában alacsony. Az 1. ábrán az M. 808 és a P. 62



1. ábra. Miranovskaja 808 és Penjamo 62 leveleinek összlipid tartalma különböző körülmények között

Fig. 1. Total lipid content in the leaves of Miranovskaya 808 and Penjamo 62 plants under different conditions

fajtáknak szántóföldön 2 hónapon keresztül fagyhatásnak (kb. 0 °C) és laboratóriumban néhány napig alacsony hőmérsékletnek (−10 °C) kitett egyedeinek zsírtartalmát hasonlítjuk össze a laboratóriumban 25 °C-on felnevelt egyedével. A 25 °C-on nevelt mindkét fajta leveleinek zsírtartalma közel azonos volt (1,4% körüli). Hosszan tartó hideg hatására (szántóföld) a P. 62 leveleiben csökkent az összlipidek mennyisége, míg a M. 808-ban emelkedett. Ezt a jelenséget más fagyérzékeny és fagytüró búzafajták esetében is megfigyeltük.

2. Fiatal növények zsírsavösszetétele

A búza leveleinek zsírsavösszetétele általában egyszerű. Legnagyobb mennyiségben — más szerzőkhöz [4, 5] hasonlóan — a linolénsavat (18 : 3 ω 3) találtuk a növények leveleiben, melyet csökkenő sorrendben a linolsav (18 : 2 ω 6), palmitinsav (16 : 0), olajsav (18 : 1 ω 9) és a sztearinsav (18 : 0) követnek. Vizsgálatainkban nem tapasztaltunk a szántóföldön enyhe hideghatásnak tartósan kitett M. 808 és a P. 62 fajták leveleinek zsírsavösszetétele között eltérést. Ennek valószínű oka, hogy az elmúlt enyhe télen a P. 62 fajta is képes volt linolénsav szintézisre. Ezzel szemben a laboratóriumban erős hideghatásnak kitett növényeknél a válasz egyértelmű volt (1. táblázat). Hasonló

választ kaptunk szántóföldön hosszan tartó alacsony hőmérséklet hatására is [5]. Más esetekben szintén tapasztalták a linolénsav szintjének emelkedését tartós hideg hatására [2, 4, 15].

3. Radioaktív ecetsav beépülése a zsírsavakba *in vitro*

A zsírsav-szintézis tanulmányozására a levélszeletkéket két extrém hőmérsékleten (0 °C és 25 °C) inkubáltuk. A levélminták által felvett és a lipidekbe beépített jelzett ecetsav mennyiségét, illetve annak időben való

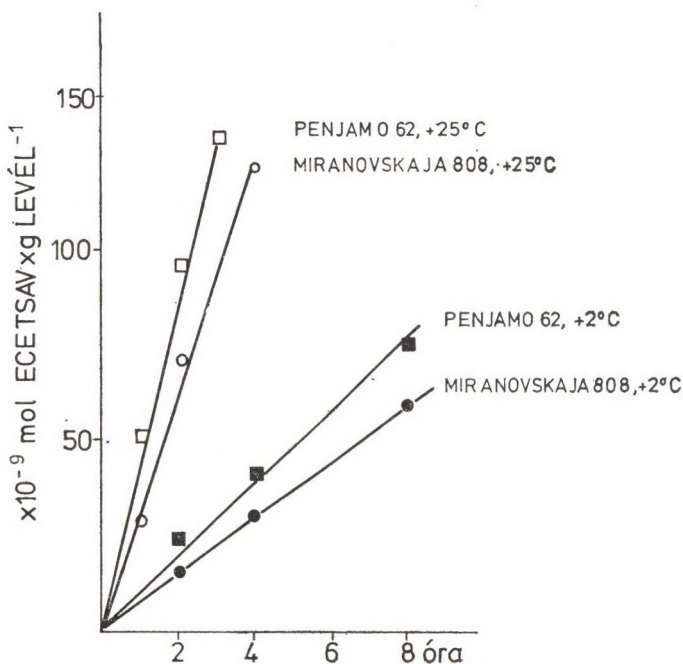
1. táblázat
Hőmérséklet hatása a Miranovskaja 808 és a Penjamo 62 búzafajták zsírsav összetételére

Megnevezés	Hőmérséklet °C	Nap	Zsírsav %				
			16 : 0	18 : 0	18 : 1	18 : 2	18 : 3
Penjamo 62 üvegház	25	6	21,3	4,2	6,2	18,2	50,1
Penjamo 62 szántóföld	kb. 0	kb. 60	10,8	2,3	3,1	13,1	68,6
Miranovskaja 808 üvegház	25	6	22,9	3,3	6,7	25,2	41,8
Miranovskaja 808 szántóföld	kb. 0	kb. 60	15,9	1,6	2,6	11,0	68,8
Penjamo 62 üvegház	25	6	21,8	7,5	7,3	17,2	46,2
Penjamo 62 üvegház	5	3	19,7	7,0	7,0	21,5	44,4
Penjamo 62 üvegház	-15	3	27,1	3,8	5,4	26,2	37,1
Miranovskaja 808 üvegház	25	6	21,2	6,1	7,9	28,7	36,0
Miranovskaja 808 üvegház	5	3	20,3	6,6	9,2	25,8	38,0
Miranovskaja 808 üvegház	-15	3	18,7	4,9	6,1	21,0	49,1

változását a 2. ábrán tüntetjük fel. 2 °C-on az inkubálásokat 8 órán keresztül végeztük. Különböző körülmények között a levelek az idővel arányos mennyiségű lipidet szintetizáltak. Úgy tűnik, hogy ez a folyamat 25 °C-on a P. 62-ben valamivel intenzívebb, mint az M. 808-ban. Az előző fajtában a lipideképződés sebessége $5,0 \times 10^{-8} \text{ mol} \times \text{g}^{-1} \times \text{óra}^{-1}$ volt, míg az M. 808 esetében ennek majdnem a fele ($3,0 \times 10^{-8} \text{ mol} \times \text{g}^{-1} \times \text{óra}^{-1}$). Alacsony hőmérsékleten (0 °C) mindkét fajta kb. azonos intenzitással szintetizálta a lipideket, mely érték $1,0-2,0 \times 10^{-8} \text{ mol} \times \text{g}^{-1} \times \text{óra}^{-1}$ volt. Mivel az M. 808-ban 25 °C-on már eredetileg kisebb sebességgel szintetizálódnak a lipidek, természetes, hogy a P. 62 fajtára a hőmérséklet csökkenése nagyobb hatást gyakorolt.

2. táblázat
Radioaktivitás megoszlása a zsírsavak között különböző hőmérsékleteken Miranovskaja 808 és Penjamo 62 búzafajtáknál

Fajta	Hőmérséklet °C	Zsírsav %				
		16 : 0	18 : 0	18 : 1	18 : 2	18 : 3
Miranovskaja 808	25	22,5	1,9	20,3	41,8	13,5
Miranovskaja 808	kb. 0	17,1	9,3	42,9	18,7	11,9
Penjamo 62	25	13,1	4,2	11,5	50,5	20,7
Penjamo 62	kb. 0	18,7	8,0	38,7	19,5	15,5



2. ábra. Radioaktív ecetsav beépülése a Miranovskaja 808 és a Penjamo 62 levél-lipidjeibe *in vitro*. A növényeket $1 \mu\text{mol}$ $[1-^{14}\text{C}]$ -nátrium acetát (sp.a. $1 \mu\text{Ci/nmol}$) jelenlétében inkubáltuk káliumfoszfát pufferben (pH 7,4)

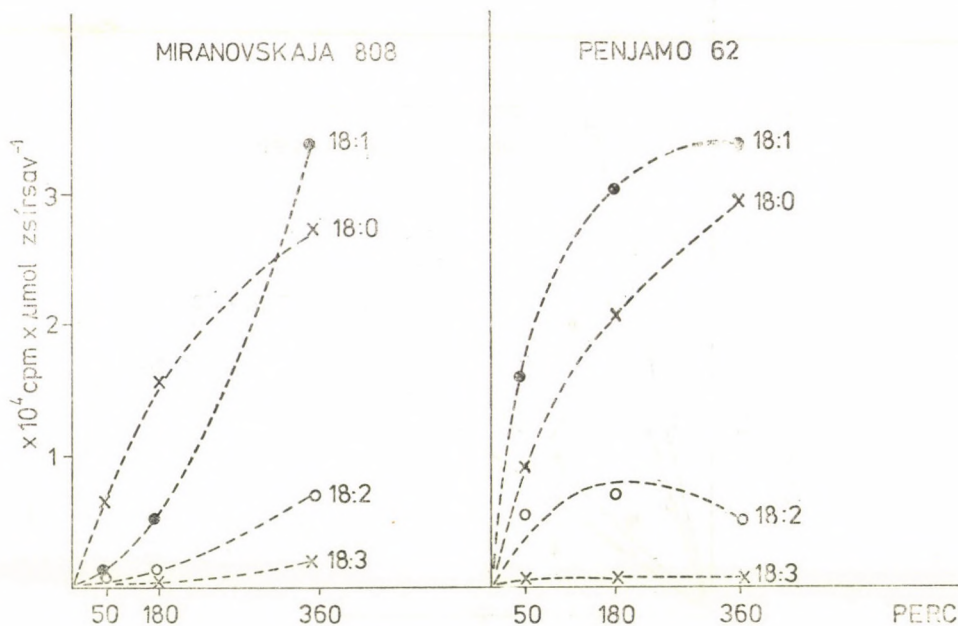
Fig. 2. *In vitro* incorporation of radioisotope-labeled acetic acid into leaf lipids of Miranovskaja 808 and Penjamo 62 plants. The leaves were exposed to $1 \mu\text{mol/l}$ ^{14}C -labeled sodium acetate (spec. activity $1 \mu\text{Ci/nmol}$) in pH 7.4 potassium phosphate buffer incubation solution

A 2. táblázat a radioaktivitás megoszlását mutatja 0°C -on, illetve 25°C -on a fontosabb gázkromatográfiásan elkülönített zsírsavak között. Mindkét fajtában az aktivitás legnagyobb hányadát a linolsav tartalmazta 25°C -on, míg 0°C -on az olajsav volt a zsírsav bioszintézisének főterméke. A hőmérséklet 0°C -ra való csökkenése alig érintette az M. 808-ban a linolénsav jelölődésének mértékét, míg a P. 62-ben kb. 25%-os csökkenést eredményezett.

4. Jelzett ecetsav és zsírsavak átalakulása *in vivo*

Az előző kísérletekből kitűnt, hogy 0°C -nál alacsonyabb hőmérséklet szükséges a fagyálló és fagyérzékeny fajták közötti különbségek biztos kimutatására. Kísérleti megközelítésként *in vivo* jelölési technikát alkalmaztunk. *In vitro* körülmények között ugyanis a legalacsonyabb elérhető hőmérséklet azonos volt a víz fagyáspontjával. E kísérletekben a prekursorokból képződött zsírsavak fajlagos aktivitásával jellemeztük a reakciókat.

A fontosabb zsírsavak fajlagos aktivitásának változásait a 3. ábrán mutatjuk be 25°C -on $[1-^{14}\text{C}]$ -acetát felhasználásával. Vizsgálataink szerint, az



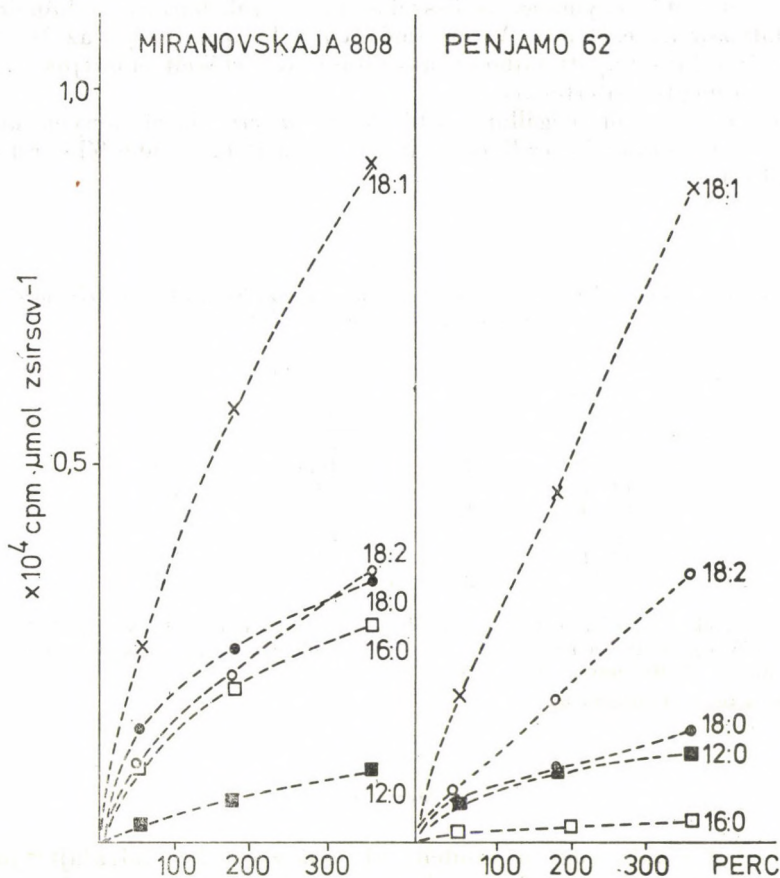
3. ábra. Radioaktív ecetsav beépülése a Miranovskaja 808 és a Penjamo 62 leveleinek zsírsavjaiba *in vivo*. A növényekbe $0,1 \mu\text{Ci}[1-^{14}\text{C}]$ -nátrium acetátot juttattunk *in vivo* és mértük az egyes zsírsavak fajlagos aktivitásának változását

Fig. 3. *In vivo* incorporation of labeled acetic acid into leaf fatty acids of Miranovskaya 808 and Penjamo 62, as assessed from alterations in specific activity of the leaf fatty acids in plants treated *in vivo* with $0.1 \mu\text{Ci}[1-^{14}\text{C}]$ -sodium acetate

M. 808-ban a sztearinsav fajlagos aktivitása szinte a teljes inkubációs idő alatt magasabb volt, mint az olajsavé. A P. 62 fajtában viszont az olajsav megelőzte a sztearinsavat. Ennek alapján az M. 808-ban sztearin-, olaj-, linol- és linolénsav reakcióutat lehet feltételeznünk, a P. 62-ben pedig a linolénsav képződés első fő prekursora az olajsav. A linolénsav fajlagos aktivitása, illetve képződésének sebessége mindkét fajtában igen alacsony volt.

A 4. ábrán a különböző linolénsav prekursorok anyagcseréjét tüntetjük fel 25°C -on. Az átalakulásokat a linolénsav fajlagos aktivitásának változásával követjük nyomon. Mindkét fajtában az olajsav, kisebb mértékben a linsav bizonyult a linolénsav legjobb prekursorának. Az M. 808-ban a sztearin- és palmitinsav is a P. 62-nél jobb hatásfokkal alakult át linolénsavvá.

Ezeket a kísérleteket 5°C -on és -6°C -on is elvégeztük, de az eredményeket itt nem részletezzük. Természetesen a kapott adatok közvetlenül nem hasonlíthatók össze egymással, a reakciósebességek csökkenése miatt. Az eredmények értékelésekor figyelembe vettük, hogy egy anyag fajlagos aktivitását a belső pool aktivitása alapvetően meghatározza. Ez esetünkben a jelzett prekursorok sejtekbe való bejutásának függvénye. Az eredmények ugyanis



4. ábra. Jelzett zsírsavak átalakulása linolénsavvá a Miranovskaja 808 és a Penjamo 62 leveleiben *in vivo*. A növényekbe jelzett zsírsavakat juttattunk (0,1 μCi /növény) és mértük a linolénsav fajlagos aktivitásának változását

Fig. 4. *In vivo* transformation of labeled fatty acids to linolenic acid in the leaves of Miranovskaya 808 and Penjamo 62 plants, as assessed from alterations in the specific activity of linolenic acid in plants treated each with 0.1 μCi labeled fatty acid

csak akkor hasonlíthatók össze, ha az azonos inkubációs idő helyett, az azonos jelöltségi fokú mintákat vesszük alapul. Természetes, hogy ugyanazon jelöltségi fok eléréséhez annál hosszabb időre van szükség, minél alacsonyabb a hőmérséklet. Kísérleteink során megállapítottuk, hogy az egyes zsírsavak esetében -6°C -on a fajták 8 óra alatt tudtak annyi aktivitást felvenni, mint 25°C -on 15–25 perc alatt. Az ún. equivalens jelölődési idő 5°C -on 45–90 perc között ingadozott. Ha ezen idők alatt elért fajlagos aktivitások hányadosát vesszük, akkor jó összehasonlítási alaphoz juthatunk. Az 1-nél nagyobb hányados esetében a linolénsav képződésének mértéke a vizsgált hőmérsékleten gyorsabb, mint a kontroll 25°C -on.

A két fajtát egymással is összehasonlíthatjuk bármelyik hőmérsékleten egy adott zsírsav esetében. Az eredményt megkapjuk, ha pl. az M. 808 megfelelő zsírsavjára kapott fajlagos aktivitásának értékeit elosztjuk a P. 62-re vonatkozó megfelelő értékkel.

Kísérleteinkből megállapítható, hogy *in vivo* körülmények között az M. 808 intenzívebben képez linolénsavat, mint a P. 62 mindenféle prekursorból (3. táblázat).

3. táblázat

A linolénsav fajlagos aktivitásának aránya különböző hőmérsékleteken a Miranovskaja 808 és a Penjamo 62 búzafajtáknál

Prekurzor	Hőmérséklet		
	25 °C	5 °C	-6 °C
2 : 0	1,3	10,0	1,9
12 : 0	3,9	3,8	1,9
16 : 0	1,7	5,0	2,9
18 : 0	2,6	25,0	2,0
18 : 1	1,0	3,2	2,9
18 : 2	2,4	7,6	15,2

Az eredmények kiszámításánál azonos jelöltségi fokú mintákat vettünk alapul. Az értékek a számított (25 °C), illetve a mért (5 °C és -6 °C) linolénsav fajlagos aktivitásainak

$\left(\frac{\text{sp.a 18 : 3 Miranovskaja 808}}{\text{sp.a 18 : 3 Penjamo 62}} \right)$
hányadosai.

Megvitatás

Ha feltesszük, hogy a modellként választott két búzafajta jól reprezentálja a fagyálló és fagyérzékeny fajták nagy csoportját, akkor az eddigi vizsgálatok alapján megállapítható, hogy a fagyálló fajták képesek hosszú távon egy kritikus alacsony hőmérséklet körül (-5 °C) növelni lipidjeikben a linolénsav arányát. E hőmérsékletig a másik típus lipidjeiben is emelkedik a linolénsav aránya, de kb. -5 °C alatt nem halmozódik fel. E zsírsav felhalmozódása a membránok tranzíciós pontjának csökkenését eredményezheti.

Felvetődik azonban, hogy a linolénsav elég gyorsan képződik-e a növényekben ahhoz, hogy a hirtelen bekövetkező hőmérséklet-csökkenés káros hatásait kivédhesse. Kísérleteinkből és irodalmi adatokból is [12] arra lehet következtetni, hogy ennek a zsírsavnak a képződése igen lassú és így aránylag hosszú idő szükséges jelentősebb mértékű felhalmozódásához. Mi csak néhány napos fagyhatásnak kitett növények leveleiben tudtunk linolénsav felhalmozódást kimutatni. Ez az idő azonban olyan hosszú, hogy még a fagyellenálló növények is károsodhatnak. Nem bizonyított az sem, hogy az így felhalmozott linolénsav képes-e kellő mértékben csökkenteni a membránok fázisváltozásának hőmérsékletét. Palmitin- és linolénsavból álló modellkeverékek olvadáspontja ugyanis csak akkor csökken jelentősen, ha az utóbbi aránya meghaladja a 60%-ot [10].

Egyelőre nem tudjuk megmagyarázni, hogy rövid távon milyen mechanizmusok segítségével védekeznek a fagyálló növények membránjaik károsodása ellen. Az azonban valószínű, hogy nem linolénsavval. Feltételezzük, hogy kell lennie egy másik mechanizmusnak, melynek jelenlétét az alábbiak is alátámasztják: *a*) a fagytűrő búzafajták sikerrel átvészelik az alacsony hőmérséklet első periódusait is; *b*) vannak fagy-ellenálló növények, melyek a hőmérséklet tartós csökkenésének hatására sem növelik membrán-lipidjeikben a linolénsav arányát (pl. bizonyos akác- és nyárfafélék kéregsejtjei igen alacsony hőmérsékleteket [$-160\text{ }^{\circ}\text{C}$] is képesek elviselni a meglévő igen kevés [kb. 10%] linolénsav tartalommal [18, 20, 23]). Az azonban nyilvánvaló, hogy a növényeknek szükséges a membrán-lipidjeik halmazállapotát a hőmérséklet változásaihoz hozzáigazítaniuk. Következésképpen a fagytűrő növényeknek olyan mechanizmusokkal kell rendelkezniük, melyek gyorsan képesek a membránokban a szükséges változásokat létrehozni.

A membránok tranzíciós pontjának csökkentésére egyik lehetőség a krioprotektív anyagok gyors szintézise lenne. Újabban le is írtak krioprotektív fehérjéket fagyálló búzafajtáknál [21]. Ezek az anyagok azonban a hidrofíll természetük miatt alkalmatlanok az egyébként magas lipidtartalmú struktúrák fizikai-kémiai állapotának befolyásolására. Erre a célra csak olyan anyagok felelhetnek meg, melyek a zsírsavakhoz hasonlóan egy aránylag hosszú apoláros láncsal és egy poláros résszel is rendelkeznek. Az apoláros lánc — úgy, mint a koleszterol az állatok membránjaiban [1, 8, 16] — megakadályozná a foszfo- és galaktolipidek zsírsavláncainak rendeződését a kritikus hőmérséklet alatt. Folyamatban levő vizsgálataink ilyen anyagok izolálására is irányulnak.

A membránok foszfolipid összetételének megváltoztatása is alkalmas lehet a fázisváltás hőmérsékletének párhuzamos csökkentésére. Adatok vannak arra vonatkozóan, hogy pl. azonos telítetlenségi fokú foszfatidilkolin fázisváltásának pontja alacsonyabb hőmérsékleti tartományokba esik, mint a megfelelő foszfatidil-etanolaminé [1, 8, 16]. Ennek megfelelően az említett és hidegnek kitett fafélék kéregsejtjeiben növekszik a foszfatidilkolin abszolút mennyisége, illetve aránya [18, 20, 23]. Az itt nem részletezett méréseink ugyancsak azt mutatják, hogy alacsonyabb hőmérsékleten a fagyálló búzafajták leveleiben a foszfatidilkolin koncentrációja nagyobb, mint a fagyérzékeny növényekben. E jelenség is csak akkor lehet hatékony segítség a növények számára, ha e foszfolipid megfelelő sebességgel halmozódik fel a levelekben. Ennek eldöntésére is állítottunk be kísérleteket.

Összefoglalás

A Miranovskaja 808 és a Penjamo 62 fiatal növények leveleibe jelzett ecetsavat, illetve jelzett zsírsavakat ($[1-^{14}\text{C}]-12 : 0, -16 : 0, -18 : 0, -18 : 1, -18 : 2$) juttattunk be és mértük a linolénsavvá váló átalakulásukat, különböző hőmérsékleteken ($25\text{ }^{\circ}\text{C}$, $5\text{ }^{\circ}\text{C}$ és $-6\text{ }^{\circ}\text{C}$). Más kísérletekben a fiatal növények levélsejteit inkubáltuk $[1-^{14}\text{C}]-\text{ecetsav}$ jelenlétében, majd mértük a jelzés megjelenését a fontosabb zsírsavakban. A linolénsav *de novo* képződésének mértéke igen alacsonynak bizonyult. Az olajsav volt a jelzett zsírsavak közül a leghatásosabb prekursor, melyet a linolsav követett. A Miranovskaja 808 minden prekursorból és minden hőmérsékleten nagyobb hatásfokkal képzett linolénsavat, mint a Penjamo 62. Tartós alacsony hőmérséklet ($-15\text{ }^{\circ}\text{C}$,

3 nap) hatásának kitett Miranovskaja 808 leveleiben a linolénsav aránya emelkedik, a Penjamo 62-ben csökkent. Mivel a linolénsav jelentős felhalmozódásához aránylag hosszú idő szükséges, felmerül az a lehetőség, hogy a fagyálló növények rövid távon valamilyen más mechanizmus segítségével védekeznek az alacsony hőmérséklet káros hatásaival szemben.

IRODALOM

1. BLANK, M. and SOO, L. (1976) The effect of cholesterol on the viscosity of protein-lipid monolayers. *Chem. Phys. Lipids*, **17**, 416–422.
2. CANVIN, D. T. (1965) The effect of temperature on the oil content and fatty acid composition of the oils from several oil seed crops. *Can. J. Bot.*, **43**, 63–69.
3. CHAPMAN, D. and FLUCK, D. J. (1966) Physical studies of phospholipids. III. Electron microscope studies of some pure fully saturated 2,3-diacyl-dl-phosphatidyl ethanolamines and phosphatidyl cholines. *J. Cell. Biol.*, **307**, 1–11.
4. DE LA ROCHE, I. A., ANDREWS, J., POMEROY, M. K., WEINBERGER, P. and KATES, M. (1972) Lipid changes in winter wheat seedlings (*Triticum aestivum* L.) at temperatures inducing cold hardiness. *Can. J. Bot.*, **50**, 2401–2409.
5. FARKAS, T., DÉRI-HADLACZKY, É., BELEA, A. (1975) Effect of temperature upon linolenic acid level in wheat and rye seedlings. *Lipids*, **10**, 331–334.
6. HAYASHI, M., MURAMATSU, T. and HARA, I. (1973) Surface properties of synthetic phospholipids. II. Thermal phase transitions in monolayers. *Biochem. Biophys. Acta*, **291**, 335–343.
7. HONG-WEI, WU. S. and MCCONNELL, H. M. (1975) Phase separations in phospholipid membranes. *Biochemistry*, **14**, 847–854.
8. LADBROOKE, B. D., WILLIAMS, R. M. and CHAPMAN, D. (1968) Studies on lecithin-cholesterol-water interactions by differential scanning calorimetry and X-ray diffraction. *Biochim. Biophys. Acta*, **150**, 333–340.
9. LINDEN, C. D., WEIGHT, K. L., MCCONNELL, H. M. and FOX, C. F. (1973) Lateral phase separations in membrane lipids and the mechanism of sugar transport in *Escherichia coli*. *Proc. Nat. Acad. Sci. U. S.*, **70**, 2271–2275.
10. LYONS, J. M. and ASMUNDSON, C. M. (1965) Solidification of unsaturated/saturated fatty acid mixtures and its relationship to chilling sensitivity in plants. *J. Amer. Oil. Chem. Soc.*, **42**, 1056–1058.
11. LYONS, J. M. and RAISON, J. R. (1970) Oxidative activity of mitochondria isolated from plant tissues sensitive and resistant to chilling injury. *Plant Physiol.*, **45**, 386–389.
12. MAZLIAK, P. (1973) Lipid metabolism in plants. *Ann. Rev. Plant Physiol.*, **24**, 287–310.
13. MCGLOSSON, W. B. and RAISON, J. R. (1973) Occurrence of a temperature induced phase transition in mitochondria isolated from apple fruit. *Plant Physiol.*, **52**, 390–392.
14. MICHAELSON, D. M., HORWITZ, A. F. and KLEIN, M. P. (1974) Head group modulation of membrane fluidity in sonicated phospholipid dispersions. *Biochemistry*, **13**, 2605–2612.
15. MILLER, R. W. I., DE LA ROCHE, I. A. and POMEROY, M. K. (1974) Structural and functional responses of wheat mitochondrial membranes to growth at low temperatures. *Plant Physiol.*, **33**, 426–435.
16. PHILLIPS, M. C., FINER, E. G. and HAUSER, H. (1972) Differences between conformations of lecithin and phosphatidylethanolamine polar groups and their effects on interactions of phospholipid bilayer membranes. *Biochem. Biophys. Acta* **290**, 397–402.
17. PHILLIPS, M. C., LADBROOKE, B. D. and CHAPMAN, D. (1970) Molecular interactions in mixed lecithin systems. *Biochem. Biophys. Acta*, **196**, 35–49.
18. SAKAI, A. and SUGAWARA, Y. (1973) Survival of poplar callus at super-low temperatures after cold acclimation. *Plant and Cell Physiol.*, **14**, 1201–1224.
19. SHIMSIK, E. J. and MCCONNELL, H. M. (1973) Lateral phase separation in phospholipid membranes. *Biochemistry*, **12**, 2351–2360.
20. SIMONOVITCH, D., SINGH, J. and DE LA ROCHE, I. A. (1975) Studies on membranes in plant cells resistant to extreme freezing. I. Augmentation of phospholipids and membrane substance without changes in unsaturation of fatty acids during hardening of black locust bark. *Cryobiology*, **12**, 144–153.
21. VOGLER, K. G., KEBER, K. (1975) Cryoprotective leaf proteins. *Biochem. Biophys. Acta*, **412**, 335–349.

22. WADE, N. L., BREINDENBACH, R. W. and LYONS, J. M. (1974) Temperature induced phase changes in the membranes of glyoxysomes, mitochondria and proplastids from germinating castor bean endosperm. *Plant Physiol.*, **54**, 320–323.
23. YOSHIDA, S. and SAKAI, A. (1973) Phospholipid changes associated with the cold hardiness of cortical cells from poplar systems. *Plant Cell Physiol.*, **14**, 353–359.

INVESTIGATIONS ON THE FATTY ACID METABOLISM OF COLD TOLERANT (MIRANOVSKAYA 808) AND COLD SENSITIVE (PENJAMO 62) WHEAT CULTIVAR

T. Farkas, A. Belea, L. Vigh and I. Horváth

Institute of Biochemistry and Genetics, Biology Research Center
Szeged, Hungary

Labeled acetic acid or different labeled fatty acids ($[1-^{14}\text{C}]$ —12 : 0, —16 : 0, —18 : 0, —18 : 1, —18 : 2) were administered to young leaves of *Miranovskaya 808* or *Penjamo 62* plants and their linolenic acid production was measured at different temperatures (25 °C, 5 °C, —6 °C). In another series of experiments leaf slices from young plants were incubated in the presence of $[1-^{14}\text{C}]$ —acetic acid and the appearance of the tracer was measured in certain fatty acids. The de novo synthesis of linoleic acid was poor. Among the labeled fatty acids the oleic and linoleic acids proved to be the most efficient precursors. The *Miranovskaya 808* cultivar produced linolenic acid more efficiently than the *Penjamo 62* cultivar from all precursors and at each temperature tested. On prolonged exposure to low temperature (3 days at —15 °C) the linolenic acid content of the leaves increased in *Miranovskaya 808*, but decreased in *Penjamo 62*. Since accumulation of a considerable amount of linolenic acid requires a relatively long time, it is believed that protection of cold resistant plants against the injurious effects of low temperature involves some other short-term mechanism(s), too.

VITAROVAT

TUDAT, TÁRSADALOM: MINŐSÉGI UGRÁS AZ EMBER EVOLÚCIÓJÁBAN*

Az állatok egymáshoz és a környezethez való viszonyát öröklött, merev „forgatókönyv” határozza meg, az ösztönök, melyek meghatározott kiváltó környezeti ingerre működésbe lépnek és a környezetnek, illetve a környezeti eseménynek megfelelő viselkedésre készítetik az állatot. Az ösztönök egyszerű reflexek bonyolult rendszerei, így megvalósulásuk gérendszer-ek összehangolt működésének eredménye.

Az állat, életmódját tekintve, szoros kettős függésben él. Egyrészt a génektől, hiszen csak az általuk meghatározott szervezettel és viselkedéssel rendelkezik, másrészt a környezettől, hiszen csak annak megfelelő szervezettel és viselkedéssel marad fenn. Ez az alapja az állati evolúció sajátosságának, mely mutációk és környezeti szelekció egységéből áll.

A spontán- (véletlenszerű) mutációk következtében különböző életmódú változatok lépnek fel, melyek fennmaradásának az adott környezetnek való megfelelés a kritériuma. Másrészt a környezet változásai esetén azok az egyedek (változatok) életképesek, melyek az új környezetnek is megfelelnek, vagy épp ott élik világukat igazán.

Az állati (genetikai) evolúció lényege, hogy mutációk révén eltérő tulajdonságú egyedek jelennek meg, melyekből a fennmaradó, elterjedő, továbbfejlődő a környezeti szelekció által válogatódik ki.

Ember esetében egy minőségileg új típusú rendszer szabályoz legfelső szinten, mely nem veleszületett, hanem az egyedi élet során alakul ki, így meghatározója az egyedüli ingerforrás, a környezet.

A személyiség a környezeti hatásokat tükrözi alapvonásaiban, elsősorban spontán, mélytudatos másolás, érzelmi azonosulás révén, mely fejlődésében az első időszakot jellemzi; a környezeti tapasztalatokat használja fel kiteljesedéséhez a későbbiekben, főleg irányult, magastudatos tanulás, effektív gondolkodás révén. Eközben mint önerősítő rendszer működik, ahol a gondolkodási és úgynevezett lelki folyamatok önszervező egységben működnek.

A fogékony fázisban levő fejlődő pszichikumra élményerejű ingerek, illetve helyzetek hatnak, melyek ismétlésére, illetve felidézésére törekedve (gyakorlás) szokáserejű, mélytudatos válaszokat alakít ki. Így a környezeti hatásokból belső indíttatások, rendező elvek, viselkedés-meghatározó tényezők válnak. Az ember éntudata a környezethez való folytonos viszonyulás során alakul ki, a környezet mindenkori visszajelzései alapján ítéli meg szükséges cselekedeteit. Mindezen működések alapja, eszköze a szervezet.

A tudat révén az ember sajátága egyrészt egy beláthatatlan mértékű, folyamatos alkalmazkodási képesség, másrészt a környezet alkotó, célszerű befolyásolásának lehetősége. Az ember az állattal szemben aktív, önmagát és környezetét tudatosan alakító, emlékekkel és tervezéssel, elemzéssel és következtetésekkel bíró lény, aki a természet és saját erőit, anyagait, kölcsönhatásait konkrét, tudatos célok szerint mozgatja.

Az ember magatartásai, egymáshoz és a környezethez való viszonyai teljesen tanultak, további tanulással tetszőlegesen módosíthatóak. Mivel nem ösztönök vezérelnek, genetikai tényezők közvetlen hatásától mentesek. Csak a működés feltételeit, alapját (szervezet, egyszerű reflexek) határozzák meg a gének, csak a képesség, a lehetőség öröklődik, az emberi faj általános képességei, melyek ember mivoltának kifejlődéséhez szükségesek és e képességek mennyiségi, aránybeli változatossága, mely az egyének kifejlődését teszi lehetővé. A megvalósulás teljes egészében tanulás függvénye.

* Hozzászólás Csaba György: ... a szociofenotipikus evolúció c. cikkéhez (Biológia, 23, 1975/2).

Az ember gyors és mélyreható változása épp azért lehetséges, mert megszabadult az alkalmazkodás, változás genetikai meghatározottságától és biológiai korlátaitól; fejlődése társadalmi, szellemi, nevelési szférába helyeződött át, módja akaratától vált függővé.

Az ember lényege, hogy totálisan tanuló lény, fejlődése a tudat fejlődése, amelyet a léte határoz meg és amely révén a léte humanizálja.

A kultúrkörnyezet így nem egy tőlünk független, idegen, velünk szemben álló, rajtunk uralkodó hatalom — mint a természeti —, hanem a közegünk; mi változtatjuk változásaink révén, szerint, minket tükröz, általa teljesedünk ki. A természet az ember kialakításával törököt fogott. Az ember, a környezeten való uralomra jutás révén, a természetet háttérbe szorítva, új, társadalmi környezetet teremtett magának.

Az ember a maga képére alakítja a környezetet, így hosszú távon a visszahatás neki megfelelő, kedvező, fejlesztő. A környezet általunk okozott gyökeres változásai oly gyorsan követik egymást (immár nemzedéken belül) és a módosítás lehetőségei oly nagyok, hogy evolúciós mértékű genetikai visszahatás eleve nem léphet föl. A környezet visszahatása csak a termelő, tudományos, kulturális szférában jelentkezik, mint újabb feladat, mint a gondolkodás feltétele, tárgya, így fejlesztője.

A szelekció a természeti környezet közvetetté válásával megszűnt. A kultúrkörnyezetnek (társadalomnak) nincsenek szelekciós faktorai, mivel tanulás útján bármilyen környezeti igénynek megfelelhettünk, mert a környezetet aktív, gondolkodó tevékenység révén mi változtatjuk, valamint mert a társadalmi gondoskodás szélsőséges esetekben is kizárja a szelekció lehetőségét. (Evolúcióról beszélve, a ma még csak lehetőségként, de egy idő múlva ténylegesen létező dolgokat is valóságként kell kezelni.) A szelekció spontán, válogató hatását a célirányos mintaadás és a tanítás mindenkire kiterjedő nevelő hatása váltotta fel.

Az ember létének jellemző, lényegi, elengedhetetlen vonása a környezet állandó változtatása; fejlődése a környezet fejlesztésétől elválaszthatatlan. Ez nem okoz mutációt, hiszen a *lét* (társadalmi környezet) határozza meg a tudatot (életmódot, magatartást), nem pedig a genetikai állomány, így a pszichikum változása génektől független, illetve a *lét* a *tudatot* határozza meg, nem pedig a genetikai állományt, így a környezet változásai csak az életmódban tükröződnek. Az általunk változtatott környezethez változatlan genetikai állománnyal, tanulás révén, hajlékonyan alkalmazkodunk, és azon problémáinkat, melyek új testi tulajdonságokat igényelnének tőlünk, a tudomány és a technika segítségével oldjuk meg. Környezetünk, „alkalmazkodásunk” munkánk, tanulásunk függvénye.

Súlyos szociális problémát jelent, hogy az öröklötten betegek — tüneti kezelés révén — egyre inkább megérik a felnőttkort, a genetikai veszélyek (bizonyos vegyi anyagok, sugárzások) növekednek; evolúciós szerepük azonban nincs, mivel jórészt nem érintik az emberi lényeket, és mert evolúciós szempontból nagyságrendileg elhanyagolhatóak. Ezen ártalmak megelőzése, illetve kiküszöbölése csak — a fejlődés által objektíven meghatározott — idő kérdése.

A társadalom a természetből ered. Korunk még az átmeneti állapot időszakába esik. E két tényező okozta ismeretelméleti zavart jól mutatja a szociofenotipikus evolúció fogalma, mely Csaba György cikkében szociológiai jelenségeket, fenotípusos változásokat, kulturális evolúciót egyaránt jelent, illetve ezek gyűjtőfogalmaként szerepel.

A genetikai evolúciót a környezet hozta létre (egyrésztől, másrésztől a mutációk) — kölcsönhatás nélkül. A kulturális evolúció a kölcsönhatás megjelenésével (tudat megjelenése) jön létre, és az ember szerepének meghatározóvá válása jelzi fejlődését. A kulturális evolúció folyamatosan fejlődik, okozott változásai nem genetikaiak, hanem kulturálisak; eredményei nem öröklődnek, hanem a generációk során, illetve alatt újra s újra tanulandóak. A tudatos ember evolúciójánál a környezet már nem az evolúció előidézője és meghatározója, hanem az ember önfejlődésének eszköze és talaja.

A kulturális evolúció felváltotta a genetikai evolúciót. A genetikai evolúció lényegében a természet fejlődésének története volt, mely kikényszerítette az élővilág adekvát változását (adott élőlények változása a létező mutációk és környezeti lehetőségek által meghatározott irányban). A kulturális evolúció lényegében az ember fejlődésének története, mely kikényszeríti a természet adekvát változását (adott környezet változása a tudatos célkitűzések és a természet objektív törvényszerűségei által meghatározott irányban).

Az embernek, miközben alakítja környezetét, folyamatosan változnak a tulajdonságai — tanulás révén. Ez utóbbi egyetemes emberi sajátság — szelekció nincs. (A gazdasági-társadalmi gátak *történelmeik*.)

A fenotípus a gének és a környezet hatásainak eredője. Eszerint mindazon környezeti változások, melyek az adott genetikai bázison nyugvó, azáltal behatárolt tulajdonságok megváltozását okozzák, a *fenotípus* alakulását eredményezik. Ilyen változás pl. az akceleráció, mely a sok ezer éves sanyarú életkörülmények hirtelen, tartó javulásával következett be. Fenotípusos változások addig lesznek, amíg teljesen ki nem aknázódnak — változatlan — genomunk

lehetőségei. A fenotípus változása (modifikáció) nem öröklődő; a „fenotipikus evolúció” paradox fogalom.

Tudatos ember esetében új, összességükben formailag a fenotípusnak megfelelő, de minőségileg gyökeresen eltérő tartalmú (eredetű) tulajdonságok jelennek meg, melyek a tudatos gondolkodás és a társadalom hatásainak eredői (kozmetika, öltözködés, testedzés, illem, gátlásosság, ravaszság stb.). Egy adott történelmi, gazdasági, társadalmi helyzet által létrehozott, csak attól függő változás az emberi magatartásban, életmódban, normatívákban *nem* evolúció. Mint ahogy a genetikai evolúcióba sem tartozik bele egy környezeti tényező átmeneti megváltozása miatt, egy populációban időlegesen fellépő modifikáció, úgy a kulturális evolúciónak sincs köze a túlzott gyógyszerzedéshez, a dohányzáshoz, a vadászathoz, a bélyeggyűjtéshez, a beat-rajongáshoz és más szociológiai-pszichológiai, *történelmileg* változó jelenségekhez.

Az ember tízmillió éves genetikai evolúciójához képest éles ugrás a tudat (kultúra) megjelenésétől a tudatos embert mindenoldalúan tükröző új környezet megteremtéséig eltelő, ráadásul eredményeiben exponenciálisan gyorsuló tízezer év. E „gyors” átmenet, melyben mi is élünk, a kultúra, a technika szakadatlan gyarapodásában és fejlődésében nyilvánul meg, amit tükröz az emberek közti viszonyok, az eszmék, az életmód — keserves harcok árán történő — megújulása. A szükségletek szerint kielégített és képességek szerint kihasznált élet, a közösségekben való önmegvalósítás, az emberi teljesség feltételeinek megteremtése (mely immár történelmi szinten is belátható jövő) fogja lehetővé tenni a kulturális evolúció beláthatatlan távlatokba tartó kiteljesedését. E folyamat pusztán gazdasági-társadalmi tényezőktől függ, mivel a következő nemzedékeket az általunk teremtett környezeti és emberi viszonyok, a mi nevelő hatásaink fogják meghatározni.

Medgyesy Péter

József Attila Tudományegyetem
Szeged

AZ ÖNÁLLÓSULT TUDAT, AVAGY A BIOLOGIKUMÁTÓL MEGFOSZTOTT EMBER*

Az ember évezredekkel ezelőtt, de lehet, hogy már évszázadekkel ezelőtt megteremtette istenképét, melynek vallásoktól független lényege az volt, hogy egy felsőbbrendű lényre ruházta mindazokat a képességeket, amelyekkel saját maga nem rendelkezett, és felöltöztette az isteneit olyan külsőségekbe, amelyekkel saját maga is rendelkezett. Az ismeretek növekedése az istenképet detronizálta, mert megnövelte az ember tudatát és képességeit. Lehetségesnek tűnik, hogy ennek a trónfosztásnak egyenes folytatása egy új ember-istenkép kialakulása, mely most már fordítva, az embert ruházza fel „isten” képességekkel, és elhitheti vele, hogy a természeti törvények ránézve nem érvényesek?

Tudatunkat létünk határozza meg. A lét elsődlegessége nyilvánvaló, a testet felépítő alkotóelemek összehangolt működése nélkül nem létezik a tudat. Nem lehet azonban elfogadni azt a tételt, hogy a lét — biológiai szempontból — a társadalmi környezet. Társadalmi szempontból a lét lehet a társadalmi környezet, de biológiai szempontból nem. Biológiai szempontból nézve a lét az ember egész biológikuma, és mint ilyen évszázadek alatt kialakult stabil rendszer. A tudat pedig nem más, mint az ember pszichéje, amely a környezethez való alkalmazkodás szolgálatában lehetővé teszi az emberi életmódot és magatartást, és ezáltal — az emberi magatartás részeként — megváltoztatja a környezetet. Lehetséges volna ezek után, hogy a tudat akkora szerephez jut, hogy a létre — a biológikumra — ható általános természeti törvényszerűségek egyszerűen érvénytelenné válnak, és az ember által teremtett törvényszerűségek érvényesek csak? Azt hiszem, természettudományos alapokon állva erre a következtetésre jutni nem lehet. Az ember társadalmi mivolta nem vitatható, és az sem, hogy alapjaiban biológiai lény. Bár az állatvilágból magasan kiemelkedett, szerkezetében, felépítésében állat. Ha ez nem így volna, akkor a biológia és orvostudomány megállapításainak több mint 90%-a hasznavehetetlen lenne, ezeket ugyanis állatkísérletek alapján alkalmazták az emberre. Az ember DNS-e olyan, mint a baktériumé vagy a sponóté. Az információ tárolásának és átadásának mechanizmusa olyan, mint az egysejtűeké, és az idegek ingervezetése olyan, mint a kagylóban. A csíralemezek kialakulása olyan, mint a madárembrióé. Mindazok a biológiai törvényszerűségek, amelyek a DNS szabályozására vonatkoznak, éppúgy érvényesek az emberre, mint a földgilisztára, a radioaktív sugárzás éppúgy elváltozásokat idéz elő az ember DNS-ében, mint akár a baktériumokéban is.

Az ember tudatos cselekedeteivel *igyekszik* kirekeszteni a természetes szelekciót, és itt a hangsúly az „igyekszik”-en van. Jelen pillanatban azonban, csak körvonalazódnak ennek lehetőségei. Vannak pontok, ahol a szelekciót — a föld egyes részein — felszámoltuk, más pontokon és területeken szabadon arat. Az emberi teremtőerő lehetőségeit egy-egy kiemelkedő cselekedet mutatja meg, a realitás azonban a tömegméretekben rejlik. Az ember bebizonyította, hogy akár a világűr meghódítására is képes (teljesítmény), azonban a városi közlekedés akadozik (tömegméret). Ember-roncokat is rá tudunk tenni szív-tüdő készülékre, és nem engedjük bekövetkezni a biológiai halált (teljesítmény), de a csecsemőhalandóság Afrikában és Dél-Amerikában még mindig elképesztően magas (tömegméret). Mindezt extrapolálva, a szelekció kikapcsolása még nem a ma problémája, hanem legfeljebb a holnapé. Azonban ez a kérdés sem ilyen egyszerű.

A mutáció és a természetes szelekció együtt eredményezték az evolúciót, melynek éppen egyik csúcsteljesítménye az ember. Az ember azonban nem engedi tovább az evolúciót — mondjuk —, mert a mutánsokat vagy meggyógyítja, vagy bezárja, illetve a szelekció lehetőségét — és most a jövőről van szó, tehát engedjük meg — közömbösíti. Ezt a közömbösítést a mesterséges környezet biztosítja, beleértve az ember-kórokozó kapcsolat mesterséges szabályozását éppúgy, mint a városokba tömörülést, a lakások klimatizálását, a közlekedést, a vegy-

* Válasz Medgyesy Péter hozzászólására

ipart stb., stb. Csakhogy jelen pillanatban az ember szelekció-közömbösítő effektusa az egész szelekció hatásához képest szórványos, miközben maga ez a heroikus küzdelem új, rendkívül erős hatású szelektáló faktorokat hoz létre. Nem kell feltétlenül azt hinnünk, hogy a természetes szelekció csak akkor természetes, ha a természet csinálja. A fogalom születésének időpontjában még csak a természetnek voltak olyan hatalmas tényezői, amelyek szelektálni tudtak, azonban ma már éppen az ember tudatos tevékenysége következtében rendelkezik olyan hatású faktorokkal, melyek éppúgy tudnak szelektálni. A mesterséges környezet éppúgy szelektálhat, mint a természetes, azzal a különbséggel, hogy a — nevezzük így — természeti szelekció a lényegében tökéletesebb felé visz, míg a mesterséges környezet szelekciója egyelőre előttünk ismeretlen irányba tendál. Nem látszik valószínűnek, hogy csak a jégkorszak volt az, amely a hideget nem tűrő szervezeteket kiszelektálta, elképzelhető, hogy a kátránytermékekkel teli környezet is kiszelektálja azokat, akik a tüdőrákra hajlamosak. Miért nem lehet tudomásul venni, hogy a XX. század utolsó részének rohanó tempója azoknak biztosít *szelekciós előnyt*, akiknek keringési rendszere jobban bírja ezt a fokozott megterhelést. A szelekció minden körülmények között hat. Az egy teljesen más kérdés, hogy az ember — jelen pillanatban — *igyekszik* meggátolni a szelekció következményeit, és feltételezhetjük, hogy a távoli jövőben még *is tudja* gátolni azokat. Ez valóban azt jelentheti, hogy „evolúciós méretű” változások nem jönnek létre, azonban azt is jelenti, hogy az emberiség egyre több genetikai károsodást hordoz magában, és ezek az emberiség jövőjét egyre bizonytalanabbá teszik.

Az, hogy az ember az evolúciót nem engedi továbbfejlődni, szimplifikálás. Valószínű, hogy új faj nem jön létre, de az ember változik, és éppen egyre növekvő tudatos beavatkozása miatt, egyre fokozódó mértékben. Ezért megkockáztatnám annak felvetését, hogy még az „evolúciós méretű változás” fogalmával és ennek lehetetlenségével is csínján kell bánnunk. Ha a neandervölgyi embertől a Homo sapiensig történő változásokat evolúciós méretűeknek fogjuk fel, akkor annak fogható fel, ha az emberiség átlagos vércukorszintje néhány ezer év múlva nem 100 mg/100 ml, hanem 150 mg/100 ml lesz, ill. ha a föld szintjével lesz egyenlő harántboltozatunk, akkor is, ha ezek az elváltozások már ma is korrigálhatók. Az ember anatómiájának és fiziológiájának nem szerves tartozékai az anti-diabetikus készítmények, és a lúdtalpbetét sem. Az ember tudatos cselekedeteivel tehát sok mindent korrigálhat, de alapvető természeti törvényszerűségeket nem iktathat ki.

Ha az ember az evolúció lehetőségét kizárja — és ezt abban az értelemben valóban el kell fogadnunk, hogy az embertől merőben, minőségileg eltérő új faj fellépése nem várható —, akkor sem tudja kizárni a mutációkat. Ezt a kérdést nem lehet úgy elintézni, hogy „genetikai veszélyek (bizonyos vegyi anyagok, sugárzások) növekednek; evolúciós szerepük azonban nincs, mivel jórészt nem érintik az emberi lényegét, és mert evolúciós szempontból nagyságrendileg elhanyagolhatók. Ezen ártalmak megelőzése, ill. kiküszöbölése csak — a fejlődés által objektíven meghatározott — idő kérdése”. Ez lehet, hogy filozófiailag igaz, az ember biológiumában azonban ezen „objektív idő” alatt olyan változások következhetnek be, melyek a továbbélést teszik lehetetlenné, és akkor az embernek — mivel saját keretében az evolúciót kizárja — még az a vizsgálat is sem lehet meg, hogy ő adja az új evolúciós lépcső bázisát. Az evolúció az ember életképességét befolyásoló sérülések miatt ugyanis ekkor más fajokból fog folytatódni. Aki a sugárzások, vegyi anyagok, tehát az egész mesterséges háttér hatásának problémáját nem veszi komolyan, az lehet, hogy boldogan él a jelenben, de viseli a felelősséget az utógenerációk előtt.

A környezet változásai valóban gyorsan követik egymást. Ez azonban nem jelenti azt, hogy „a környezet visszahatása csak a termelő-tudományos, kulturális szférában jelentkezik, mint újabb feladat, mint a gondolkodás feltétele, tárgya, így fejlesztője is”. Az impulzusok, annak ellenére, hogy egymástól eltérőek, bizonyos tekintetben summálódhatnak — pl. a DNS-re való hatásukban —, és amennyiben azonos irányban hatnak, mutációkat hozhatnak létre, és ennek a természetes szelekció nem lévén jelen, evolúciós hatásai nincsenek is, genetikai hatásai lehetnek, és kiszámíthatatlanok.

Az elmondottakra azzal lehetne válaszolni, hogy az emberi tudás mindenre megtalálja a gyógyírt, mint ahogy eddig is megtalálta. Azonban éppen az ember tudásának, és ezáltal lehetőségeinek növekedésével fokozódik a beavatkozások erőssége és mélysége, és mindig utólag derül ki ezeknek olyan „mellékhatása”, amelyek éppen a genetikai állomány károsodását eredményezik. Ehhez járul, hogy az emberi tevékenység egy bizonyos ponton öntörvényűvé válik, nem lehet megállítani, mert pl. az emberiség létszámának növekedésével az élelmiszer-termelés fokozni kell, ami kemizációt igényel, ami genetikailag káros, de erről nem lehet lemondani, mert akkor az emberiség éhen hal. Így a kör bezárul. Ilyen körfolyamatokra máris számos példát lehetne felhozni. És ezek a körfolyamatok kisebb részben akaratunktól függetlenek, és nagyobb részben a körülmények által ránk kényszerítettek.

Az evolúció fogalmát sokféleképpen lehet használni. Beszélünk az élet evolúciójáról, beszélünk a lamarcki evolúcióról, táplálkozási evolúcióról stb. Nyilvánvaló, hogy a kulturális evolúció alapjaiban tér el a genetikus evolúciótól, mégis használjuk a fogalmat. A kulturális evolúció abban a formában működik, hogy az ember generációról generációra átadja kulturális örökségét. A könyvek, az információt tároló eszközök totális felszámolásával a kulturális evolúció fogalma illuzórikussá válnék; szülei nélkül nevelődő gyermek ismeretanyaga évezredekkel esnék vissza ugyanakkor, amikor a genetikus evolúció alapján kifejlődő ember mivoltából mit sem vesztené. Miért ne lehetne szociofenotipikus evolúcióról beszélni, ha ez a kulturális evolúcióhoz természetében hasonló? Lehet, hogy a „fenotipikus evolúció” paradox fogalom, azonban a kultúra is fenotipikus jelenség, tehát a kulturális evolúció is fenotipikus. A szociofenotipikus evolúciónak — anélkül, hogy szükséges volna vitatkozni a némenklatúra helyességén — az a lényege, hogy a genetikai és kulturális evolúcióra épül, és jelzi azoknak összehangolt és pozitív vagy negatív irányú változásait. Lényegében tehát valóban másodlagos, de mint jelző elsődleges és fontos, az ember egyes minőségi indexeit, környezetéhez való viszonyát mutatja. Lehetséges, sőt biztos, hogy a fenotipikus változás „történelmileg változó”, azonban az, amit a szociofenotipikus evolúció fogalma fed, a génekkel kapcsolatos, mert az ezekben rejlő lehetőséget hozza felszínre, és visszahat a génekre, éppen az ember társadalmi tevékenysége által megváltoztatott környezet révén. A fogalomnak tehát csak mint jelzőnek van létjogosultsága, jelzései azonban nem „rossz szokásokra” mutatnak, hanem az ember biológiai és társadalmi mivolta közötti ütközések révén létrejövő súlyos zavarokra.

Az ember megteremtette a robbanómotort, és utólag jött rá, hogy a benne keletkező égési termékek szervezetét rombolják, de ekkor már nem tudott lemondani róla. Az ember létre tudta hozni a nukleáris hasadást, de csak utólag tudott számolni ennek következményeivel. Az ember megteremtette a mezőgazdaság kemizálását és bármennyire tisztában van problémás voltával, már nem tud lemondani róla, mert szüksége van rá. Azonban az ember még mindig nem tudott megbirkózni a szökőárral, a földrengéssel, a túlnépesedéssel, az élelmiszer-termelés problémáival, bár közülük némelyik megoldására elvileg lehetősége volna. Az ember tudatos beavatkozása következtében új betegségek lépnek fel, melyek újabb feladatok elé állítják, és ezek a feladatok nem kisebbek a korábbiaknál. Az ember szervezete nehezen alkalmazkodik a tudata által létrehozott eszközökhöz és életmódhoz. Az ember jövőbeni fejlődésének folyamata tehát nem „pusztán társadalmi-gazdasági tényezőktől”, hanem biológiai ellenállóképességének, génjeinek és ezáltal biológikumának egészségétől, sőt a biológikumának és szociológikumának problémáit jelző szociofenotipikus evolúciójának irányától is függ.

Dr. Csaba György

Semmelweis Orvostudományi Egyetem
Biológiai Intézete

KÖNYVISMERTETÉS

VARIABLE STRUCTURE SYSTEMS WITH APPLICATION TO ECONOMICS AND BIOLOGY

A. RUBERTI and R. R. MOHLER. (ed.) Springer Verlag, Berlin—Heidelberg—New York,
1975. VI, 321 old., 56 ábra, 5 táblázat. DM 30,—

A könyv a Springer Verlag M. Beckmann és H. P. Künzi által szerkesztett közgazdaságtani és matematikai-rendszerelméleti sorozatának (Lecture Notes in Economics and Mathematical Systems) 111. kötete. A rövid és kevésbé informatív előszón kívül a könyv az 1974 májusában tartott, bilineáris és általánosabb változó struktúrájú rendszerekkel foglalkozó „Second US—Italy Seminar on Variable Structure Systems” rendezvény 17 előadását tartalmazza.

Az előadók közt egyaránt vannak biológusok és társadalomtudósok, valamint rendszerelmélettel foglalkozó matematikusok és mérnökök. A szeminárium — és így a könyv — szándéka nyilvánvaló: közelíteni az elméleti eredményeket és két jellemző, nagy társadalmi fontosságú alkalmazási terület problémáit. A mindenképpen dicséretes szándék aktualitását a megvalósítás is igazolja: az előadásoknak nemcsak a színvonala, de a problémafelvetése és „nyelvezete” is igen heterogén. A biológus olvasó érdeklődésére leginkább a következő öt előadás tarthat számot:

- MOHLER: A Basis for Variable Structure Models in Human Biology;
- BRUMI et al.: The Immune Response as a Variable Structure System;
- BANKS et al.: Nonlinear Systems in Models for Enzyme Cascades;
- BIONDI-GRANDORI: Mathematical Model of the Peripheral Nervous Acoustical System:
Applications to Diagnosis and Protheses;
- BELL: A System Analysis of Cerebral Dehydration.

Telegdi László

1828—1978

MEGJELENT AZ AKADÉMIAI KÖNYVKIADÁS
150. ÉVÉBEN

A kiadásért felel az Akadémiai Kiadó igazgatója

Műszaki szerkesztő: Sándor István

A kézirat nyomdába érkezett: 1978. III. 21. — Terjedelem: 6,75 (A/5) fv
78.5173 Akadémiai Nyomda, Budapest — Felelős vezető: Bernát György

MTA Könyvtára
Periodika 1978/3. n.

MAGYAR
AKADÉMIAI KÖNYVTÁR

TARTALOM

GÁNTI T.: Életkritériumok és az élő rendszer definíciója	91
LADUNGA I.: Egy új, nagyhibatűrésű határozórendszer: a DPS	109
BERTÓK L.: A szervezet fiziko-kémiai defenziója	127
TÖRÖK OTTILIA: Hipofízis hormonok hatása újszülött patkány pajzsmirigy szervtenyészetekre.....	135
FARKAS T., BELEA A., VIGH L. ÉS HORVÁTH I.: Adatok a fagyűrő (Miranovskaja 808) és fagyérzékeny (Penjamo 62) búzafajták zsírsav anyagcseréjéhez.....	143

VITAROVAT

MEDGYESY P.: Tudat, társadalom: minőségi ugrás az ember evolúciójában	155
CSABA GY.: Az önállósult tudat, avagy a biológikumától megfosztott ember.....	159

KÖNYVISMERTETÉS

RUBERTI A. and MÖHLER R. R.: Variable structure systems with application to economics and biology (Telegdi László)	163
--	-----

Ára: 20,—Ft

Előfizetés egy évre: 30,—Ft

INDEX: 26.073
ISSN: 0133-3844

Biológia (Budapest)
25/2 (1977)

INDEX

GÁNTI, T.: Life Criteria and the Definition of Living Systems	91
LADUNGA, I.: Difference- Pairing- Summarizing- (DPS) Tables: A New Identification System of High Error-Tolerance	149
BERTÓK, L.: Physicochemical Defense System	127
TÖRÖK, OTTILIA: Effect of Hypophyseal Hormones on Organ Cultures from Newborn Rat Thyroid	135
FARKAS, T., BELEA, A., VIGH, L. and HORVÁTH, I.: Investigations on the Fatty Acid Metabolism of Cold Tolerant (Miranovskaya 808) and Cold Sensitive (Penjamo 62) Wheat Cultivar	143