

304.441

29  
1981

# biológia

29, 1981/1

AKADÉMIAI KIADÓ, BUDAPEST

9



## SZERZŐINK SZÍVES FIGYELMÉBE!

A BIOLÓGIA (korábban *Biológiai Közlemények*) évente két füzetet tartalmaz. Elsősorban az *elméleti és molekuláris biológia, a sejttan, örökléstan, és a 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 beszámoló*k.

A lap ezenkívül *vitákat indító*, vagy azokhoz *hozzászóló* cikkeket, valamint *könyvismertetéseket 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 technikai szerkesztő, **1445 Budapest, Nagyvárad tér 4.** A cikkek elfogadásáról a Szerkesztőbizottság — a beérkezett szakértői vélemények alapján — évente két alkalommal dönt. Az elutasított dolgozatokat visszaküldjük, ill. javasoljuk más profilú laphoz való beküldését.

A dolgozatok **fejléce** tartalmazza a *címet*, a *szerző(k)* teljes nevét, az *intézet* és a *város* megnevezését, valamint a *kulcsszavakat*.

A teoretikus cikkek és az irodalmi feldolgozások **tagolása** tetszőleges. A bonyolultabb tagolású cikkekhez „*fejezetrangsort*” kell mellékelni, amelyből világosan kitűnik az egyes fejezetek egymáshoz való viszonya. A decimális fejezetszámozást lehetőleg kerüljük. (A nyomtatásban eltérő betűtípusok jelzik a fejezetek „rangját.”) Az eredeti kutatómunkát ismertető cikkeket a következőképpen kell tagolni: Bevezetés — Anyag és módszer — Eredmények — Megvitatás — Összefoglalás — Irodalom.

A szövegben *dőlt betűvel* (amit folyamatos vonallal való aláhúzás jelöl) kell kiemelni:

- a tudományos *genus- és fajneveket*;
- az *in vivo, in vitro* és a *de novo* kifejezéseket;
- valamint az *ábrákra, ill. a táblázatokra való hivatkozáskor azok sorszámát*.

A szerzők neveit **NAGYBETŰVEL**, a ritkított szöveget *r i t k á n* kell írni.

A szövegben az irodalomra a cikkek sorszámával, vagy pedig a szerző(k) nevével és a cikk sorszámával kell hivatkozni. A cikkek sorszámát szögletes zárójelbe kell tenni.

Az **irodalomjegyzéket** sorszámozva, ABC sorrendben kell összeállítani a következő példák szerint:

A) folyóirat cikk esetén:

1. BROWN, J. (1973) Heredity and ontogeny. *Nature*, 238, 19—27.

B) könyv idézésekor:

1. MOURANT, A. E., KOBECA, C. and DOMANIEVSZKA-SZOBSCZAK, K. (1976) *The distribution of the human blood groups and other polymorphisms*. 2nd ed. Oxford University Press, Oxford

C) gyűjteményes mű felhasználásakor:

1. MILLER, O. L. and LEATTI, B. L. (1969) Nucleolar structure and function. In: LIMADE FARIA, A. (ed.): *Handbook of molecular cytology*. North-Holland Publ. Comp., Amsterdam—London, 605—619.

Az irodalomjegyzékben csak azokat a szerzőket lehet feltüntetni, akikre szöveg közben hivatkozás történt.

A lapban megjelenő dolgozatokat külföldi referáló folyóiratok *angol nyelvű összefoglalóik*, ill. címük alapján ismertetik. Ezért célszerű az **angol összefoglalás** informatív, szabatos fogalmazása.

Az **ábramagyarázatok**at — magyar és angol nyelven — külön lapra kell gépelni, ábránként új bekezdésben. A grafikonokat és rajzokat ábra, a fényképeket kép megjelöléssel kell sorszámozni, arab számokkal. A cikkhez mellékelni ábrák hátoldalán szerepeljen azok sorszáma és a szerző neve. Színes ábrát a Szerkesztőség nem fogad el. A **táblázatok**at is külön lapra kell gépelni római sorszámozással. Külön lapon kell mellékelni a táblázatok magyar és angol nyelvű címét. Az ábrák magyar és angol sorszámát, valamint a magyar címét folyamatos vonallal való aláhúzással kell kiemelni.

A dolgozat végén jelöljék meg a *szerző* nevét és munkahelyének *pontos címét* (irányítószámmal).

A megfogalmazásnál ügyeljének a világos, *magyar stílus* használatára, a helyesírási kérdések eldöntésénél az MTA legújabb kiadású „A magyar helyesírás szabályai”-ban foglaltak tekintendők irányadónak.

A közlemény elfogadása esetén a szerzők megkapják a *hasáb-* és a *tördelt lenyomatot*. Ezen a nyomda hibájából eredő javításokat *kék*, a szerzői korrektúrát *piros színnel* kell bejelölni. A kézirattól eltérő javításokat vagy kiegészítéseket csak kivételes esetekben lehet elfogadni.

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



# BIOLÓGIA

ELMÉLETI ÉS KÍSÉRLETI BIOLÓGIAI  
FOLYÓIRAT

A szerkesztőbizottság  
elnöke:  
CSABA GYÖRGY

A szerkesztőbizottság  
tagjai:  
CSÁNYI VILMOS  
DOBOZY OTTÓ  
(technikai szerkesztő)  
FARAGÓ ANNA  
GÁNTI TIBOR  
HEGYI GYÖRGY  
KISZELY GYÖRGY  
KOMÁROMI LÁSZLÓ  
VIDA GÁBOR



AKADÉMIAI KIADÓ, BUDAPEST







## FOSZFOLIPID VEZIKULÁK (LIPOSZÓMÁK) AZ ALAPKUTATÁSBAN ÉS AZ ORVOSI GYAKORLATBAN

SZEBENI JÁNOS ÉS BÁTHORI GYÖRGY

Országos Haematológiai és Vértranszfúziós Intézet, Budapest és  
Simmelweis Orvostudományi Egyetem Biofizikai Intézete, Budapest

Beérkezett: 1980. november 10-én

*Kulcsszavak:* liposzóma, foszfolipid, bilayer-membrán, hatóanyag-kapszulálás, szelektív gyógyszer irányítás

Mintegy másfél évtizede ismert, hogy ha oldószer-mentes foszfolipideket vizes oldattal elegyítünk, akkor — megfelelő technika alkalmazása esetén — a lipid molekulák kettős rétegekből álló zárt, koncentrikus héjakba rendeződnek, miközben a vizes fázis egy részét a benne levő oldott anyaggal együtt magukba zárják [6, 7]. Ezek az ún. liposzómák a készítési módtól függően 20—10 000 nm átmérőjű, a kettős rétegek száma szerint uni-, oligo- vagy multilamelláris gömb, elliptikus vagy cilindrikus struktúrák.

A lipidösszetétel és a preparálási metodika megfelelő megválasztásával alakjuk, nagyságuk, a lamellák száma, a bezárt térfogat és (ható)anyagmenyiség, valamint egyéb fiziko-kémiai tulajdonságaik, így felszíni elektrosztatikus töltésük, fluiditásuk, ion- vagy molekula-permeabilitásuk, antigenitásuk, végül adszorpciós és fúziós hajlamuk az adott célnak megfelelően szabályozható.

A liposzómák az alapkutatás fontos objektumai, elsősorban a biológiai membránok szerkezetének és funkcióinak modellezésére szolgálnak. Ezen kívül a genetikai kutatásban is elterjedtek, mint génevktor [43], sőt technikai alkalmazásukra (a liposzóma falába zárt bakteriorodopszin a fényenergiát elektromos potenciállá alakítja) is folyamatban vannak biztató kísérletek [98].

Mégis elmondható, hogy napjainkban egyre inkább a liposzómák orvosi felhasználása került az érdeklődés középpontjába.

Gyógyszerek valamilyen burokba zárása a gyógyszeripar régóta bevált gyakorlata. Liposzómába, vagyis természetes, metabolizálódó, nem toxikus lipidburokba zárás azonban minőségileg újat jelent e téren. Több kísérlet bizonyítja, hogy a liposzómák olyan biológiai membránokon is képesek átvinni hatóanyagokat, melyen egyébként nem hatolnának át [43]. Képes (lehet) továbbá a gyógyszert csakis meghatározott szövetbe vinni és ott leadni, vagyis

*Rövidítések:* **ABA-Tyr-PE:** mono-(p-azofenil-foszforilkolin)-tirozil-foszfatidiletanolamin; **BLM:** kettősrétegű membrán (bilayer membrane); **ConA:** konkanavalin-A; **DMSO:** dimetil-szulfoxid; **DNP-Cap-PE:** N-(2,4-dinitrofenil)-ε-aminokaproil-foszfatidiletanolamin; **DTPA:** dietilén-triamin-pentaacetát; **EDTA:** etilén-diamin-tetraacetát; **HDL:** nagy-sűrűségű (high density) lipoprotein; **IOV:** kifordított (inside-out) vezikulum; **LMV:** nagy (large) multilamelláris vezikulum; **LUV:** nagy (large) unilamelláris vezikulum; **PEG:** polietilén-glikol; **SUV:** kis (small) unilamelláris vezikulum; **T<sub>c</sub>:** kritikus hőmérséklet (critical temperature); **vvs:** vörösvérsejt



nagyfokú szelektivitást biztosítani. Ezen kívül a hatóanyag felszívódásának, eloszlásának, metabolizálódásának és toxicitásának megváltoztatásával lehetővé teheti eddig túlságosan toxikus gyógyszerek bevezetését a klinikai gyakorlatba, vagy a már eddig alkalmazott gyógyszerek hatását előnyösebbé teheti. Ez utóbbi lehetőség már több gyógyszer esetén megvalósult; számos közlemény tudósít arról, hogy egy hatóanyag liposzómába zárása a terápiás hatásokot növelte, vagy valamilyen más szempontból kedvező hatást eredményezett.

E kutatási terület aktualitását bizonyítja az a tény is, hogy már liposzómával foglalkozó nemzetközi konferenciát is rendeztek (New York, 1977 szeptember). Nagyszámú összefoglaló cikk jelent meg [15, 28, 30, 38, 43, 88, 99, 120, 124] és könyveket is kiadtak már e témáról [39, 40, 44, 94].

A következőkben a liposzómákkal kapcsolatos eredményeket, megfigyeléseket, gyakorlati felhasználásuk szempontjából fontosabb adatokat szeretnénk röviden áttekinteni.

## I. A liposzómák sajátosságai és készítésük

### A liposzómák összetevői

A liposzómák egy- vagy többfajta foszfolipidből, koleszterinből és egyéb adalékanyagokból állnak. Az utóbbi kettő jelenléte nem szükségszerű. A következőkben sorra vesszük a leggyakrabban használt liposzóma összetevőket, és egy-egy rövid megjegyzésben utalunk néhány „liposzóma szempontból” fontos sajátosságukra.

### Bázis anyagok

#### 1. Természetes foszfolipidek

a) állati eredetű: tojáslecitin

Tojássárgájából előállítható, telített és telítetlen, különböző szénatom-számú zsírsavakat tartalmazó foszfolipid keverék [75]. A legtöbb liposzóma-készítmény alapanyaga.

b) növényi eredetű: szójabab-lecitin

Szintén foszfolipid keverék. A tojáslecitinnél több komponenst tartalmaz és több benne a telítetlen zsírsav.

#### 2. Szintetikus foszfolipidek

A különböző fejcsoportok és oldalláncok szintézisének variációs lehetőségei igen nagy számot adnak, ezért ezen anyagoknál csak a legfontosabb összetevőket soroljuk fel [120].

a) A poláros fejcsoport alkotói: foszfatidil-kolin (PC), foszfatid-glicerol (PG), foszfatidsav (PA), foszfatidil-szerin (PS), foszfatidil-etanolamin (PE), szfingomielin (SP).

b) A szénhidrogén-oldallánc alkotói: palmitinsav (P), (16 : 0); sztearin-sav (S), (18 : 0); mirisztinsav (M), (14 : 0); olajsav (O), (18 : 1); laurinsav (L), (12 : 0).



## Liposzóma preparálási módok

### 1. Foszfolipid film hidratálása

E módszer leírása (és ezzel a liposzóma kutatás kezdete) A. D. BANGHAM nevéhez fűződik [6, 7]. A lipid oldatból az oldószert eltávolítjuk (vákumos párologtatással vagy nitrogén átáramoltatással), és egy vékony foszfolipid filmet hozunk létre a lombik belső felszínén. Ezután a filmet hidratáljuk, vagyis a lipideket összerázzuk (esetleg üvegyöngyök segítségével) a bezárandó anyagot tartalmazó vizes oldattal. Végül a liposzómába be nem záródott anyagot dialízissel, géliszűréssel vagy (ultra)centrifugálással választjuk el a liposzómáktól. (Ez a többi módszerre is érvényes.) Fontos, hogy a hidratálás a lipid-film fázisátalakulási pontja fölötti hőmérsékleten történjen, mivel ez alatt instabil struktúrák jönnek létre [118].

E módszerrel heterogén diszperziót, azaz alakra, nagyságra és a lamellák számára nézve inhomogén liposzómákat kapunk. A bezárt (vizes fázis)-térfogat és a bezárási hatások (a vízben oldott részek liposzómába zárt hányada) nagymértékben függ a hidratálás idejétől és módjától (pl. kis amplitudójú, 20 órán át tartó rázás 50%-al növeli a bezárt térfogatot a 2 órán át tartó, nagy amplitudójú rázáshoz képest) [120].

#### I. táblázat

#### A különböző módszerrel készült liposzómák összehasonlítása

Table 1. Comparison of liposomes prepared with different methods

Módszer	Liposzóma típus	Méret* (nm)	Bezárt térfogat* (liter/mol lipid)	Bezárási hatások* (%)	Felhasználási terület
1. Foszfolipid film hidratálása	LMV	200—5000	1—4	5—26	gyógyszerek, makromolekulák bezárása, más módszerek bevezető lépése
2. Szonikálás	SUV	20—50	0,2—1,5	0,1—1	biofizikai kísérletek
3. Etanolos injektálás	SUV	30—110	0,5	1	biofizikai kísérletek
4. Éteres injektálás	LUV	100—300	8—20	1	gyógyszerek, makromolekulák bezárása, biofizikai kísérletek
5. Ca <sup>2+</sup> -os fúzió	LUV	200—1000	7	10—15	makromolekulák bezárása
6. Detergens eltávolítás	SUV	30—100	0,5—2	12	membrán-enzimek, -receptorok rekonstrukciója
7. Reverz fázisú párologtatás	LUV LMV	160—1000	8—17	20—68	gyógyszerek, makromolekulák bezárása
8. Liposzóma préselés	LMV	200—300	3,8	22,6	gyógyszerek, makromolekulák bezárása

\* Az irodalomban található szélső értékeket adtuk meg.

### 3. Koleszterin

Általános membránstabilizáló [41, 64, 107]. A liposzómák készítésénél 0–50 mol%-ban adagolják a foszfolipidekhez. A membrán fázis-átmeneti tartományát kiszélesíti. Jelentősen befolyásolja a liposzóma méretét, falának vastagságát, a foszfolipidek mozgásait, a membrán hidratáltságát [103]. Koleszterin hiányában a liposzómamembrán a kis molekulák számára könnyen átjárható [78, 91], a lipid komponenseket a szérum lipoprotein (a HDL) könnyen eltávolítja [1, 65, 109].

#### *Adalék anyagok*

#### 4. A liposzómák felszíni elektrosztatikus töltését meghatározó anyagok

- a) A felszínt negatívvá teszik: foszfatidil-szerin, foszfatidsav, dicetil-foszfat, kardiolipin
- b) A felszínt pozitívvá teszi: sztearilamin.

#### 5. A liposzómák antigenitását fokozó anyagok

A liposzómák általában gyenge antigének, legtöbbször „csak” haptének [63]. A glikolipidek, glikopoliszaharidok, a kardiolipin és a foszfatidil-etanolamin dinitrofenilált származékai (legerősebben a DNP-Cap-PE), különösen szfingomielinnel együtt jelentősen fokozzák a liposzómák immunválaszt kiváltó képességét [63].

6. A liposzómák fázisállapotát, permeabilitását, fúzióhajlamát és egyéb fiziko-kémiai paramétereit befolyásoló anyagok: lizolecitin, diolein, triolein, oleil-alkohol, metil-oleat stb. [94].

#### **A liposzómák osztályozása, nomenklatúrája**

A liposzómák (vagy kolloidikai terminológiával „szmektikus mezofázis”) morfológiai és funkcionális sajátosságai az összetételtől és preparálási módtól függően igen nagy eltéréseket mutatnak. Ez szükségessé tette a liposzómák osztályozását, egységes nomenklatúra bevezetését. Az 1978-as New York-i konferencián elfogadott elv szerint [94] a liposzómákat nagyság és lamella-szám szerint három csoportba soroljuk: 1. kis, unilamelláris liposzómák (SUV) (átmérőjük kisebb mint 100 nm) [120]; 2. nagy, unilamelláris liposzómák (LUV) (átmérőjük nagyobb mint 100 nm) [120]; 3. nagy, multilamelláris liposzómák (LMV).

A hárombetűs jelölés után zárójelben adjuk meg a liposzóma összetételét és a komponensek moláris arányát, pl. SUV (DPPC/Chol 1 : 1) [120].



A módszer előnye, hogy egyszerű, különleges műszert nem igényel. Hátránya, hogy a nagy liposzómák ellenére a bezárt térfogat és a bezárási hatások aránylag kicsi (lásd az *I. táblázatot*).

## 2. Ultrahangos besugárzás

Egyike a leginkább elterjedt liposzóma gyártási eljárásoknak. A lipid-film hidratálással (vagy egyéb úton nyert) lipid diszperziót ultrahanggal besugározzuk (szonikáljuk) és így kis, unilamelláris liposzómákat nyerünk. A készítmény inhomogén. A módszer hátránya, hogy — egyrészt a közvetlen energiaátadás, másrészt a keletkezett hő révén — a szonikálás károsíthatja a foszfolipideket és a bezárandó (makro)molekulákat. Ezenkívül a szonikálás során aeroszolok keletkeznek, melyek a bezárt (esetleg veszélyes) anyaggal együtt a laboratórium légterébe kerülhetnek [120]. További hátrány, hogy nagy energiájú besugárzás esetén a besugárzó fejről leváló anyag (titánium) a készítménybe kerül és a lipidek degradációját okozhatja [75, 120], centrifugálással azonban eltávolítható. A szonikálással készült liposzómák bezárt térfogata és a bezárási hatások kicsi. 40 000 daltonnál nagyobb molekula nem zárható be [120].

## 3. Etanolos injektálás

Az etanolban oldott lipideket egy vékony tűn keresztül lassú, egyenletes ütemben (infúziós pumpával) befecskendezzük az állandó keverés alatt levő vizes fázisba [8, 120]. E módszerrel homogén, a szonikálással készült liposzómákkal közel azonos méretű, unilamelláris liposzómák nyerhetők. A bezárt térfogat és a bezárási hatások kicsi. A módszer nehézsége, hogy egy adott cél eléréséhez meglehetősen sok tényezőt kell összehangolni, így az injektálás és keverés sebességét, a tű lumenét és végződésének alakját, a lipid koncentrációját az etanolos és vizes fázisban, az alkohol megengedhető koncentrációját a vizes fázisban stb.

## 4. Éteres injektálás

Az elv hasonló az előző módszerhez, a különbség csak az, hogy itt az éterben oldott lipideket az éter forráspontja fölé hevített vizes oldatba fecskendezzük, így az éter eltávozik a rendszerből [21, 22]. A módszer előnye, hogy a bezárt térfogat az összes preparálási mód közül itt a legnagyobb. Hátránya, hogy a liposzómák mérete nem homogén, és a rendszer méginkább bonyolult és érzékeny, mint az etanolos injektálás. Az ott említetteken kívül még az éter elpárolgásának gyorsasága, a vizes fázis hőmérséklete, (az esetleg alkalmazott) vákum nagysága és az edény alakja olyan tényezők, melyek nagymértékben befolyásolják a preparátum tulajdonságait. Egy adott célnak legjobban megfelelő készítmény előállítása ezért hosszantartó „bejátszást”, a preparálás standardizálása pedig nagy gondosságot igényel. A módszer további hátránya, hogy az éter (és esetleges szennyeződései, pl. peroxidok) kölcsönhatnak a bezárandó anyaggal, valamint a magas hőmérséklet (37—55 °C) is károsíthatja azokat [120].



## 5. Szonikált liposzómák $Ca^{2+}$ -os fúziója

Szonikált foszfatidil-szerinből (vagy más savas foszfolipidból) álló, vagy azt nagy mennyiségben tartalmazó liposzómákhoz  $Ca^{2+}$ -ot adva óriási multilamelláris lipid-struktúrák (ún. „cohleate-cylinderek” vagy „mielin-figurák”) jönnek létre a vezikulák fúziójával. Ezután a rendszerhez  $Ca^{2+}$ -ot kötő anyagot (EDTÁ-t) adunk, aminek nyomán nagy, unilamelláris liposzómák keletkeznek [96, 97]. A bezárt térfogat és a bezárási hatások egyaránt nagy. Makromolekulák bezárására különösen kedvelt módszer [120]. Hátránya, hogy a liposzómák mérete erősen heterogén, és csak savas foszfolipidek esetén alkalmazható.

## 6. Detergens eltávolítás

A bezárandó oldattal hidratált foszfolipidekhez valamilyen detergenst (kolsav, dezoxikolsav, Triton X-100) adva (detergens-foszfolipid keveréket tartalmazó) „kevert micellumok” jönnek létre. Ha ezután a detergenst eltávolítjuk, a micellumok liposzómává alakulnak. A detergens eltávolítása dialízissel [80], gélszűréssel [11], centrifugálással [120] vagy specifikus adszorbióval (a „Bio-beads SM-2” köti a Triton X-100-at [120]) történik.

E módszerrel kis, unilamelláris, homogén liposzómák hozhatók létre. A bezárt térfogat és, a bezárási hatások kicsi. Egyedülálló előnye azonban, hogy az enyhe és kontrollálható kölcsönhatások membrán-enzimek liposzómába építésére és funkcióik rekonstruálására különösen kedvezőek [114]. Hátránya e módszernek, hogy ha nem sikerül a detergenset tökéletesen eltávolítani, a liposzómák permeabilitása (a kismolekulákra nézve) nagyobb, mint az egyéb módszerrel készült liposzómáké [120].

## 7. Reverz fázisú párologtatás

A foszfolipideket lipid-oldószerrel (dietyl- vagy izopropil-éterrel) együtt elegyítik a bezárandó vizes oldattal, a rendszert szonikálják, végül az étert (vákumos párologtatással) eltávolítják [119]. Az összes liposzóma preparálási mód közül e módszernél a legnagyobb a bezárási hatások. (Az oldott részek 20–68%-a bezárható [119, 120].) Makromolekulákat (ferritin, RNS), emlős kromoszómákat, sőt baktériumokat is sikerült már e módszerrel nagy hatásokkal bezárni [120]. Hátránya, hogy a liposzómák méretét (160–1000 nm) és a lamellák számát tekintve a készítmény nagymértékben inhomogén, továbbá a bezárandó anyag tömény lipid-oldószerrel érintkezik, ami egyes fehérjék esetén denaturációt okozhat. Ezenkívül a szonikálás hátrányai is fennállnak.

## 8. Liposzóma préselés

A legújabb és talán a legtöbb szempontból előnyös módszer. A hidratálással készült foszfolipid diszperziót csökkenő pórusméretű (3–0,2  $\mu\text{m}$ -ig) polikarbonát membránsorozaton préseljük át a  $T_c$  alatti hőmérsékleten [10, 85]. A módszer egyedülálló előnye, hogy meghatározott méretű (200–300 nm) multilamelláris liposzómák homogén populációja készíthető. A bezárási hatások, reprodukálhatóság jó. A 0,2  $\mu\text{m}$ -es póruson keresztüli préselés biztosítja egyben a készítmény sterilitását.



## 9. Hidratálás alacsony ionerőn

Ha egyrétegű foszfolipid filmet hosszú ideig alacsony ionerejű oldattal (desztillált vízzel vagy 0,25 M szaharóz oldattal) hidratálunk (állni hagyjuk), óriás (300  $\mu\text{m}$ -t is elérő) liposzómák jönnek létre [120]. Ezek azonban instabil képződmények, így bizonyos biofizikai vizsgálatokon kívül másra nem használhatók.

A különböző módon készült liposzómák nagyságának, bezárt térfogatának, a bezárás határfokának és felhasználási területüknek összehasonlítása az I. táblázatban található.

### A liposzómák stabilitása, tárolhatósága

A liposzómák stabilitását, tárolhatóságát (ha a bezárt anyag stabil) elsősorban a foszfolipid alkotók sajátságai határozzák meg. A telítetlen zsírsavakat tartalmazó foszfolipidek szobahőn és szabad levegőn könnyen oxidálódnak, lizofoszfátidokra és szabad zsírsavakra bomlanak, melyek jelentősen megváltoztatják a liposzómák sajátságait. Ennek elkerülésére a liposzómák hűtve (+4 °C-on), lehetőleg inert atmoszférában (nitrogén, argon) tárolandók. Lényeges ezenkívül a sterilitás is. A leghosszabb ideig tartó megfigyelés szerint 1 éves +4 °C-on történő tárolás után citozin-arabinozidot tartalmazó liposzómák a gyógyszer több mint 50%-át bezárva tartották [120]. A néhány hétig vagy hónapig tartó megfigyeléseket összegezve megállapítható, hogy megfelelő tárolási feltételek mellett a liposzómák lényeges funkcióvesztés nélkül tárolhatók [120].

## II. A liposzómák felhasználása az alapkutatásban

A biológiai membránok lipid kettős-rétegének modellezésére többféle lipid-preparátumot használnak, ezek egyike a liposzóma. A kutatások célja a lipid molekulák egymás közti kölcsönhatásainak, geometriai elrendeződésének, mozgásainak, konformáció-változásainak tisztázása, másrészt valamilyen anyag és a lipidek közötti kölcsönhatások vizsgálata. Jelen részben arra törekedtünk, hogy áttekintést nyújtsunk azokról a vizsgált jelenségekről, melyekhez modellrendszerként (többek között) a liposzómákat használták. Teljességre és részletességre nem törekedhettünk, csupán címszavakban felsoroljuk a vizsgált kérdéseket és jelenségeket, és rövid magyarázatokban utalunk a fontosabb megfigyelésekre, tényekre. Ez utóbbiak — természetesen — nemcsak liposzómákra vonatkoznak, hanem általános érvényűek.

### A membrán szerkezetére és funkcióira vonatkozó vizsgálatok

#### 1. Fázisátalakulás

A lipid bilayerek fizikai tulajdonságai (szerkezeti átrendeződés következtében) egy bizonyos hőmérsékleten ugrásszerűen megváltoznak. A jelenség a fázisátalakulás, a kérdéses hőmérséklet pedig a fázisátalakulási pont ( $T_c$ ) [23, 54]. A lipidmembránok a  $T_c$  felett ún. folyadék-kristályos, alatta kvázi-kristályos vagy gél állapotban vannak. Minél rövidebbek a zsírsav oldalláncok, minél több a telítetlen zsírsav és minél több elágazó oldallánc van a membránban, annál alacsonyabb a  $T_c$  [15].



## 2. Fázisszeparáció

Valamilyen tényező hatására lokális fázisátalakulás történik a membránban. E kis (fázisállapotában különböző) membránterületeket „doméneknek” nevezzük [83]. A kiváltó tényező lehet (hő)energia, vagy a membránhoz kötődő anyag, pl. bázikus fehérje vagy kation [95, 121, 125]. Az előbbi esetben termális, az utóbbiban izotermális fázisszeparációról beszélünk [82, 121]. E jelenségnek olyan alapvető membránfolyamatokban van szerepe, mint a fúzió és a transzport [82].

## 3. Permeabilitás

A liposzóma membrán ion- és molekula-permeabilitása többek között a következő tényezőktől függ: a zsírsav oldalláncok hosszúsága, a telítetlen zsírsavak és a koleszterin aránya, a felszíni elektromos töltés, a külső hőmérséklet [15, 90, 108]. A cerebrozidok növelik [69], a koleszterin csökkenti a liposzómák permeabilitását. Míg a kis anionok számára mindenfajta liposzóma nagymértékben permeabilis, a kationokat a negatív felszínű liposzómák sokkal jobban engedik át, mint a pozitív felszínűek [15]. A  $H^+$ -permeabilitás mindenfajta liposzómán kicsi [15]. A  $T_c$ -nél a liposzómák permeabilitás maximumot mutatnak [82, 121]. A nagy liposzómák a víz számára szabadon átjárhatók (ozmométerként viselkednek), a kis unilamelláris liposzómákra ez nem érvényes [15].

## 4. Fúzió

A fúzió (a bilayerek összeolvadása) függ a membrán összetételétől (PS elősegíti, koleszterin gátolja), felszíni töltésétől, fázisállapotától és a közegben levő anyagoktól [27, 74, 92]. A folyamat létrejöttéhez szükséges egyrészt, hogy a membránok összetapadjanak, másrészt hogy valamilyen tényező megbontsa az egyik membránfél stabilitását. E tényező a kísérletekben legtöbbször a  $Ca^{2+}$  [93, 125], vagy valamilyen egyéb fuzogén anyag, pl. lizolectin, PEG, DMSO. (A  $Ca^{2+}$  fázisszeparációt idéz elő és ezzel labilisabbá teszi a membránt [93], de az összetapadást is fokozza, a DMSO — valószínűleg — vízelvonással, a PEG az összetapadás fokozásával, a lizolectin a lipid-rendezettség megbontásával fejt ki fuzogén hatását.)

## 5. A lipid molekulák geometriai elrendeződése

A liposzómák méretétől függően a külső és belső monolayer sugara eltérő lehet, mely meghatározza a molekulák illeszkedését. A  $T_c$  fölött a foszfolipid fejcsoportok átlagosan  $0,6-0,72 \text{ nm}^2$  területet foglalnak el, a zsírsav oldalláncok  $0,45-0,95 \text{ nm}^2$  alapterületű hengertérben helyezkednek el [52]. A bilayerek közötti távolság (a víz és koleszterin tartalomtól függően)  $2-3 \text{ nm}$  [15]. A koleszterin az illeszkedést (kompaktságot) növeli. A gél fázisból a folyadék-kristályos fázisba történő átmenetkor a membrán expandál, a fejcsoportok eltávolodnak egymástól, a membrán vastagsága csökken [123].



## 6. A lipid molekulák mozgásai

A lipid-membránok folyadék-kristályos állapotára a viszonylagos molekuláris mozgékonyosság, a gél állapotra a korlátozott mozgás, nagyobb rendezettség jellemző. Az előbbi esetben a foszfolipidek a membrán síkjában szabadon diffundálhatnak. Transzmembrán mozgás (lipid kicserélődés a két monolayer között, ún. „flip-flop”) is lehetséges, de ez rendkívül kismértékű [70, 132]. A szénhidrogén oldalláncok valamennyi, a membrán síkjára merőleges síkban képesek mozogni, valamint kisfokú rotációs mozgást is végezhetnek.

## 7. A lipid molekulák konformáció változásai

Bár e jelenséget főként lipid diszperzió és sík BLM-en vizsgálták, az elmondottak a liposzómákra is érvényesek.

A telített zsírsavakat tartalmazó foszfolipidek ún. „transz-gauche” rotációs izomerizációt szenvedhetnek. Ez azt jelenti, hogy egy C—C kötéstengely mentén a szénatomok  $\pm 120^\circ$ -kal elfordulnak egymáshoz képest, ami a szénlánc  $60^\circ$ -os megtörésére vezet. Ezek az ún. „gauche”-ok. Több ellentétes irányú gauche létrejöttével a szénláncok között kis üregek, ún. „kinkek” keletkeznek, melyeknek (többek között) a membrán transzportban tulajdonítanak szerepet [54, 118].

## 8. A membrán hidratáltsága

A liposzómák a  $T_c$  alatt max. 20, felette 40—60% kötött vizet tartalmaznak [15]. Ez a membrán felszínén (és a rétegek között) helyezkedik el, a hidrokarbon régiók víztartalma minimális.

### A liposzóma-membrán és különböző, anyagok, illetve sejtek közötti kölcsönhatásokra vonatkozó vizsgálatok

#### 1. Liposzóma—kation kölcsönhatás

A  $Ca^{2+} \gg Ba^{2+} > Mg^{2+} > H^+$  a foszfolipid fejcsoportok negatív töltésű részéhez kapcsolódva lokális  $T_c$  emelkedést és ezzel fázisszeparációt okoz [15, 93, 125]. A képződött lineáris polimer komplexek (domének) megbontják a membrán stabilitását, ami a permeabilitás és fúzióhajlam növekedésében nyilvánul meg [15]. A  $Na^+$  és  $K^+$  ilyen hatást nem okoz [15].

#### 2. Liposzóma—lektin kölcsönhatás

A (lektin receptor-) glikolipideket (vörösvérsejt-gangliozid, laktozilceramid, koleszterin-glikolipidek) tartalmazó liposzómák a megfelelő lektin (WGA, ricin, ConA) hatására agglutinálódnak [58, 102].

#### 3. Liposzóma—toxin kölcsönhatás

A kolera-toxin receptort (monoszialogangliozidot) tartalmazó liposzómák glukóz permeabilitása megnő, ha a toxin kötődik a receptorhoz [31, 81]. Az *E. Coli* endotoxin a liposzómák felszínén töltéssűrűség változást okoz [86].

A tetanolizin (koleszterin tartalomtól függően) glukóz permeabilitás növekedést okoz [3].

#### 4. Liposzóma—anesztetikum kölcsönhatás

A prokain, tetrakain, dibukain stb. a kettősrétegbe hatolva kation permeabilitás változást okoznak [14, 32, 49]. Mozgásaikat magmágneses-rezonancia spektroszkópiával (NMR) követve következtetések vonhatók le a membránon belüli mozgásokra, kölcsönhatásokra. Néhány ilyen megállapítás: a glicerin és a zsírsavak 1—3 szénatomja szorosan illeszkedik; a membrán felszínén strukturált víz van; a nem amfifil anesztetikumok elektrosztatikus kölcsönhatásba lépnek a membránnal [14, 18].

#### 5. Liposzóma—narkotikum kölcsönhatás

A butanol, pentanol, hexanol, heptanol a membránba hatolva kation permeabilitás növekedést okoznak [7].

#### 6. Liposzóma—hormon kölcsönhatás

Gangliozidokat tartalmazó liposzómák kötik a koriongonadotrop és tireotrop hormont [87]. A kortizol, kortizon, tesztoszteron és 17- $\beta$ -ösztadiol a liposzómák permeabilitásának csökkenését, az etiokolanolon, a progeszteron, a dezoxikortikoszteron és a dietilstilbösztrol permeabilitás növekedést okoznak [112].

#### 7. Liposzóma—fehérje kölcsönhatás

A (víz)oldható fehérjék elektrosztatikus vagy hidrofób kölcsönhatásba léphetnek a liposzómákkal. A membránhoz tapadás vagy „membránba merülés” eredményeképpen a liposzómák (ion) permeabilitása megnő [61]. Ezenkívül számos olyan liposzóma—fehérje kölcsönhatás ismeretes, mely egyéb (általános jelentőséggel bíró) következményekkel is jár. Ezek a következők:

##### a) kölcsönhatás membrán-fehérjékkel

Membrán-fehérjéket izolálva, majd megfelelő lipid-összetételű liposzóma falába zárva bizonyos funkciók rekonstruálhatók. Ily módon a membrán-enzimek (különösen a transzport enzimek) működése, lipid függése jól definiált körülmények között vizsgálható. Eddig a következő membrán-fehérjéket sikerült liposzóma falába építeni:  $\text{Na}^+$ - $\text{K}^+$ -ATP-áz [5, 50],  $\text{Ca}^{2+}$ - $\text{Mg}^{2+}$ -ATP-áz [45, 100],  $\gamma$ -glutamil-transzpeptidáz [53, 113], citokrómoxidáz [15, 61], bakteriorodopszin [98], mielin-proteolipid-apoprotein [15, 61]. A  $\text{Na}^+$ - $\text{K}^+$ -ATP-áz az ATP szintézis irányában is sikerült már működtetni [115].

##### b) kölcsönhatás szérum-fehérjékkel

A HDL „kiveszi” a lipideket a liposzómák falából és ezzel szerkezetüket módosítja, nagymértékben permeabilissá teszi azokat. Ha a liposzómák antigének (lásd I. rész „Adalék anyagok” c. pontját, 5. o.), kölcsönhatásba lépnek az IgG és IgM-globulinokkal, és (komplement jelenlétében) feloldódnak [48, 59].



c) kölcsönhatás foszfolipid-cserélő fehérjével\*

Különböző típusú és összetételű membrán-preparátumokhoz (liposzóma, mikroszóma, vörösvérsejt-ghost\*\*, IOV) adva ez az enzim (szövetforrástól függő specificitással) foszfolipid átvitelre képes [46, 130, 132]. Segítségével a membránok foszfolipid összetétele meghatározható, tetszés szerint szabályozható és a transzmembrán foszfolipid mozgások tanulmányozhatók.

### 8. Liposzóma — sejt kölcsönhatások

a) fúzió

E kölcsönhatásokra ugyanazon tények vonatkoznak, mint a 10. oldalon a 4. pontban leírtak. A későbbiekben még visszatérünk rá.

b) adhézió, aggregáció

A  $Ca^{2+}$ , a magas ionerő, valamint (többek között) a PEG elősegíti a liposzómák sejtfelszínhez tapadását és liposzóma — sejt aggregátumok kialakulását [73, 88].

c) foszfolipid és koleszterin csere

E mechanizmussal a liposzómák képesek a sejtmembránok koleszterin tartalmát csökkenteni, a membránt fluidizálni [88].

d) endocitózis

A fagocitózisra hajlamos sejtek főként e mechanizmussal veszik fel a liposzómákat. A IV. részben (a 17. oldalon) e kérdésre még visszatérünk.

e) immunolízis

ABA-Tyr-PE-t tartalmazó liposzómák nemcsak humorális, hanem a celluláris immunapparátust is aktiválják. A liposzóma — limfocita kölcsönhatás eredménye egy késői hiperszenzitív reakció, ill. a liposzómák komplement függő lízise [68, 84].

## III. A liposzómák felhasználása az orvosi gyakorlatban

### Eddigi eredmények, megfigyelések

Eddig több mint százféle anyagot zártak liposzómába [44].

E részben csak azokat a (liposzómába zárt) anyagokat gyűjtöttük össze, melyeknek jelentősége lehet az orvosi gyakorlatban. Az előző részhez hasonlóan címszavakban felsoroljuk a liposzómába zárt anyagokat és rövid megjegyzésben utalunk az ide vonatkozó eredményekre, megfigyelésekre.

### Enzimek

I. Amiloglükózidáz. Az enzim liposzómába zárása POMPE-kóros betegen a máj nagyságának csökkenését eredményezte [106].

\* „foszfolipid-exchange protein”

\*\* ghost: hemoglobin-szegény vagy hemoglobin-mentes vörösvérsejt (ghost: „szellemsejt”).

2. Glükocerebrozid-béta-glükozidáz. GAUCHER-kóros betegen javulást eredményezett [106].

3. Aszparagináz. Aszparagináz-függő tumorok teljes regresszióját tapasztalták egéren, immun- és toxikus mellékhatások nélkül [106].

### Gyógyszerek

1. Inzulin. A liposzómába zárás jelentősen csökkenti az inzulin bomlását a béltraktusban és lehetővé teszi a *per os* adott hormon egy részének felszívódását. Diabetesz patkány-, egér- (és néhány ember-) kísérletben sikerült bizonyítani az ilyen módon adott inzulin vércukorcsökkentő hatását [20, 106]. Normál patkányokon vércukor csökkenés azonban nem minden esetben volt tapasztalható [106]. A szintetikus foszfolipidekből álló (DMPC, DPPC, DLPC) liposzómákat a pankréasz-lipáz és az epesavak kevésbé károsítják, így ezek még jobb felszívódást biztosítanak [19, 106].

2. Kortizol-észterek. Míg a kortizol nem, a kortizol-észtereket (kortizol-palmitát, kortizol-oktanoát) a liposzómák magukba zárják. Kísérletes artritiszben nyúlnak intraartikulárisan adva az ízület hőmérséklete és mérete csökkent, a gyógyhatás megnyúlt [24, 111].

3. Triamcinolon. Lokális, epidermális adagoláskor kedvező gyógyszer eloszlást tapasztaltak; a perkután felszívódás csökkent, a dermális, epidermális koncentráció fokozódott nyúlon [79].

4. Tubokuranin. Patkánynak intragasztriálisan adva felszívódott és kifejtette hatását [106].

5. Gentamicin. DPPC liposzómában adva *per os* is felszívódott és (nyúlban) prolongált szérumszintet biztosított. A toxikus mellékhatás helyén — a vesében — koncentrációja csökkent [106].

6. Citozin-arabinozid. L1210 tumorsejteken *in vitro* a citotoxicitás nőtt. *In vivo* az L1210 tumoros egerek életidejét jelentősen megnövelte [77, 105, 106].

7. Metotrexát. A plazmaszint jelentősen hosszabb ideig fennmarad majomban és egérben [62, 106].

8. Aktinomicin-D. A liposzómába zárás specifikusan megnövelte a citotoxicitást hepatocarcinoma sejteken, *in vitro*. A tumoricid hatás megtartása mellett a toxikus mellékhatások a csontvelőben és a bélnyálkahártyában, valamint az immun-szuppresszív hatás csökkent egéren. Ascites-tumoros egereknek adva a túlélés nőtt. Aktinomicin-D rezisztens hörsög tumorsejtek reagálnak a liposzómába zárt gyógyszerre [106].

9. <sup>111</sup>In-bleomicin. Az interszkapuláris térbe és vesébe inplantált tumorsejtek *in vivo* egéren, valamint a NOVIKOFF hepatoma és WALKER 256 karcinoma patkányban jelentős mértékben vette fel a gyógyszert [106].

10. Antimon-sók (Na-stiboglukonát, K-stibotartarát, meglumin-antimonát). A leishmaniazist egérben és hörsögben 700-szor jobb hatásfokkal gyógyítják a liposzómába zárt antimon-sók, mint a szabadon adottak. E betegség a trópusokon és szubtrópusokon kb. 100 millió embert érint. Viscerális formája, a kala-azar nagy mortalitású. A látványos hatás titka az, hogy kórokozó ostoros protozoon (*Leishmania*) éppen azokban a (fagocita) sejtekben élőszködik, melyek a liposzómákat is felveszik [4].



## Vaksinálásra használt anyagok

1. Influenza-vírus fehérjék. Az influenza-vírus köpenyéről a hemagglutinint és a neuraminidázt leválasztották és unilamelláris liposzómába építették. A kapott struktúrák meglepően hasonlítottak az eredeti vírusra, ezért „viro-szómá”-nak nevezték őket. A viroszóma jó immunogénnek bizonyult pirogén mellékhatás nélkül [2].

2. Diftéria-toxoid. A liposzómába zárás jelentősen növelte az immunválasz erősségét egéren [106].

## Egyéb gyógyhatású anyagok

1. Keláló szerek (EDTA, DTPA). A májban lerakódott plutónium egy részét e szerek eltávolították, vizelettel történő kiválasztásukat növelték egéren. Yttrium-, cézium-, ólommergezésben is hatásosak [101].

2. Szintetikus ribonukleinsavak (poli-inozinsav, poli-citidilsav és/vagy immun-RNS). Egéren ip. adás után 10–20-szoros szérum interferon szintet lehetett elérni. A humorális és celluláris immunválasz nőtt. A fagocitózis fokozódott. A vírus infekcióval szembeni sejtrezisztencia fokozódott *in vitro*. A limfociták hepatokarcinoma-sejtek elleni toxicitása jelentősen megnőtt *in vitro* [71, 72, 106].

3. Makrofág aktiváló faktor (MAF). A metasztázis képződés (szubkután melanomából) látványosan csökken egéren (90-ről 27%-ra csökken az áttétes állatok száma), ha a MAF-ot liposzómába zárva adják. A MAF egy limfokin, melyet az antigén stimulált limfociták szecernálnak. A makrofágokat tumoricid makrofágokká aktiválja, melyek képesek a tumorsejtek szelektív elpusztítására [29]. *In vitro* a MAF liposzómába zárása 16 000-szeres hatásfokozódást eredményezett patkány alveoláris makrofágok esetén [116].

4. Plazma VIII. véralvadási faktor. *Per os* is felszívódott, prolongált vérszintet biztosított [47] (lásd még a IV. részben).

5. Inozitol-hexafoszfát. Vörösvérsejtekbe juttatva az O<sub>2</sub>-affinitást csökkentette. Előregedett sejteket fiatalítani lehetett. A konzerválhatósági idő meghosszabbítható [83] (lásd még a 22. oldalon részletesebben).

## Az orvosi diagnosztikában használható anyagok

1. Radioaktív Tehnécium (<sup>99m</sup>Tc). Gamma kamerával láthatóvá lehet tenni a liposzómák eloszlását a szervezetben. Policitémia rubra verében a csontvelő veszi fel a liposzómák nagy részét. Intersticiális vagy endolimfatikus befecskendezés után a nyirokutak és a regionális nyirokcsomók rajzolata minden eddigi módszernél nagyobb felbontással detektálható gamma kamerával [12, 25].

2. 1,5-IAEDANS (fluoreszcens festék). Tengerimalacon és kutyán koronária lekötés után a liposzómák az ischaemiás szívizom-területen koncentráálódtak [13, 125].

3. TEMPO (spinjelölő) vagy egyéb marker, pl. glükóz, enzim vagy fluoreszcens festék. Új módszer gyógyszerek, hormonok, vitaminok, peptidek, proteinek stb. *in vitro* mennyiségi meghatározására (membrán-immuno-assay).



Elve hasonló a radio-immuno-assay-hez (RIA), lényege, hogy a liposzómák felszínére ültetik a meghatározandó anyagot (liposzómába beépülő amfifil molekulához kötik), mely ellen ellenanyagot termeltetnek. Ha ez kötődik a liposzómához, az (komplement jelenlétében) feloldódik és a bezárt marker kiszabadul. A kijutó marker mennyisége alapján kiszámítható (azzal fordítva arányos) a vizsgált anyag mennyisége. A módszer egyszerűbb, érzékenyebb, pontosabb, gyorsabb, kisebb mintát kíván (20  $\mu$ l), teljesen automatizálható, többféle anyagot lehet szimultán meghatározni vele és végül olcsóbb, mint a RIA [51].

#### IV. Az *in vivo* alkalmazás tapasztalatai, perspektívái

Az előző részből látható, hogy a liposzómák sokrétű orvosi felhasználást nyerhetnek a jövőben. Rutinszerű bevezetésük a klinikai gyakorlatban azonban még hosszán tartó kutatómunkát igényel. Ha a számos említett potenciális orvosi felhasználásból csak néhány válik be a gyakorlatban, az is rendkívül nagy eredmény lenne, mert — túl gyakorlati hasznán — olyan — az orvostudományban ritkaságszámba menő — tudományos produktumot képviselne, amely a biofizikai alap kutatásból került a gyakorló orvosok kezébe.

E részben a liposzómák *in vivo* alkalmazásával kapcsolatban összegyűlt tapasztalatokat ismertetjük. Kitérünk a nehézségekre, melyek az emberi alkalmazás esetén merülnek fel, végül a klinikai felhasználás néhány perspektíváját említjük.

#### A liposzómák sorsa a szervezetben

##### 1. A plazma-clearancet meghatározó tényezők

A keringésbe került liposzómák szöveti felvételének aránya és üteme a különböző kísérletekben eltérő értékeket mutat, aminek az az oka, hogy a liposzómák szervezeten belüli viselkedése rendkívül sok tényezőtől függ. Kis metodikai különbségek nagy eltéréseket okoznak e tekintetben.

A liposzóma nagysága, felszíni töltése, lipidösszetétele, a bezárt anyag mibenléte, a bevétel módja, az esetleges előkezelés és elsősorban a vizsgált faj azok a legfontosabb tényezők, melyek meghatározzák a liposzómák *in vivo* sorsát. Általánosságban csak annyi mondható, hogy a nagy multilamelláris liposzómák gyorsabban tűnnek el a keringésből, mint a kis unilamellárisak, és főleg a máj és a lép veszi fel őket. A tüdő, a bél, a vese és az egyéb szövetek felvételi aránya nagy különbségeket mutat. A liposzómák a vér-agy gáton nem jutnak át [122]. Néhány konkrét adat:

a) Embernek intravénásan adott liposzómák 80%-a 6 órán belül eltűnik a keringésből [30].

b) Patkányban intravénás beadás után a LMV keringési félideje 22 perc, a SUV-é 200 perc [57].

c) Egérben 5 perccel a liposzóma (SUV) intravénás beadása után 25% a májban, 2% a lépben, 2% a tüdőben, 2% a vesében és 2% a gyomorban volt található [25]. Patkányban ugyanezen adatok: máj: 48%, lép: 7,5%, tüdő: 0,3%, vese: 0,4%, gyomor: 0,6% [26].

d) A negatív liposzómák két — egy gyors és egy lassú — fázisban tűnnek el a keringésből patkányban. A pozitív liposzómákra ez nem érvényes [34].



e) Patkánylég kétszer jobban veszi fel a negatív, mint a pozitív liposzómákat, a tüdő 2—4-szer jobban a pozitívokat [55]. Majomban a helyzet fordított: a lép a pozitív, a tüdő a negatív liposzómákat veszi fel jobban [30].

f) Intraperitoneális adagolás esetén 5-ször, intramuszkuláris adagolás-kor 10-szer jobban szívódnak fel SUV, mint a LMV liposzómák patkányban [20].

g) Szubkután adagolás-kor a máj 21-szer, a lép 50-szer kevesebb liposzómát vesz fel, mint intravénás adás esetén [26].

h) Neutrális liposzómák két, egymást 30 perccel követő injektálása során azt tapasztalták, hogy a második adagolás-kor a máj felvételi aránya jelentősen csökkent, a tüdőé pedig (4-szer) nőtt égeren [12].

i) Enzimet (béta-glükuronidázt) tartalmazó liposzómákat jelentősen gyorsabban vette fel a máj és 9-szer tovább „tartotta” (9 napig), mint az „üres” (puffert tartalmazó) liposzómákat [117].

j) A májban először (a beadást követő 1 órán belül) a KUPFER-sejtek veszik fel a liposzómákat, majd később (3—7,5 óra után) a parenchima-sejtek is [35].

k) Koleszterinhez kötött amino-mannózzal 12—21 órától 600 órára (!) sikerült meghosszabbítani a szubkután adott liposzómák féléletidejét égerben [76].

## 2. A liposzómák kölcsönhatásai a plazma-fehérjékkel

A keringésbe került liposzómák (de főleg a bezárt anyag) sorsát nagymértékben meghatározzák a plazmafehérjékkel történő kölcsönhatások. E kölcsönhatások eredményeként (mint már említettük) a liposzóma-membrán integritása megbomlik, alakváltozást szenvednek, permeabilitásuk megnő, illetve az immunglobulinok és a komplement lízist okoz. A „támadás” eredményeképpen a bezárt anyag kijuthat a keringésbe. Az immunglobulinokkal és a komplement-rendszerrel történő kölcsönhatás szabályozható (a liposzóma antigenitásának meghatározásával), a HDL-el (és az albuminnal) történő kölcsönhatást azonban egyelőre nem tudjuk elkerülni. E kölcsönhatások azonban nem minden esetben hátrányosak. A liposzómák eddig tapasztalt kedvező terápiás hatásának mechanizmusáról számos esetben feltételezik, hogy a liposzóma keringő gyógyszer-raktárként viselkedik és a prológnált gyógyszer leadás az előnyös hatás oka. A bezárt anyag „kieresztése” és így a liposzóma-plazmafehérje kölcsönhatás ilyen esetekben nem hátrány, hanem a kedvező effektus feltétele [42].

## 3. A liposzómák szöveti felvételének módjai, intracelluláris sorsuk

A liposzómák kétféle mechanizmussal eliminálódnak a szervezetben: vagy fúzióval valamilyen sejtmembránba olvadnak, vagy endocitózisnak „esnek áldozatul”. Hogy e kettő közül melyik mechanizmus valósul meg, a kölcsönható felek sajátosságaitól és az adott környezeti feltételektől, vagyis „ismét számtalan tényezőtől” függ. A közeg magas  $Ca^{2+}$ -szintje, a liposzóma felszínének negatív töltése, a membrán folyadék-kristályos fázisállapota a fúzió-nak, a semleges töltés és gél fázis az endocitózisnak kedvez [15]. A fagocita-sejtek természetesen elsősorban endocitózissal veszik fel a liposzómákat. Ha LMV-ről van szó, a fúzió is ugyanarra az eredményre vezet, mint a fagocitózis:



a liposzóma (legkülső héjának kivételével, mely fuzionált) intaktan kerül be a sejtbe.

A sejtbe bekerült liposzómák nagy része nem sokkal később a mikroszóma frakcióban (lizoszómákban) található, ahol rövidebb-hosszabb idő alatt (1—144 óra) [117] elbomlanak. A bomlás sebessége és a bezárt anyag sorsa itt is a liposzóma tulajdonságaitól függ; pl. pozitív (sztearilamint tartalmazó) liposzómák károsítják a lizoszóma membránt, és a bezárt anyag (béta-glükuronidáz) a citoszólba ürül [117].

Egyes szövetek (pl. az izom) relative kevésbé vesznek részt a liposzómák felvételében, de ez nem jelenti azt, hogy nem lehet e sejtekbe liposzómával anyagot vinni [129]. Sőt (mint említettük), szívinfarktusbán a (pozitív) liposzómák a nekrotikus területen koncentrálódnak [13, 129].

### A liposzómák specifikus irányításának lehetőségei

Talán a leginkább vonzó, legígéretesebb liposzómában rejlő lehetőség az, hogy képesek lehetnek bizonyos sejteket felkeresni és ott hatóanyagot leadni [35]. Bár ez egyelőre inkább csak perspektíva, néhány speciális esetben sikerült a liposzómák szelektív irányítása. Néhány ilyen kísérlet:

a) A liposzómába zárt hexózáminidáz-A-t sikerült TAY—SACHS kóros beteg leukocitáiba irányítani *in vitro* úgy, hogy felszínére aggregált emberi IgG-t (AggIgG) ültettek. Az IgG aggregációjára azért volt szükség, mert így jobb hatásfokkal (98%-ban) és előnyösebb irányultsággal épültek a liposzóma-membránba. A jelenség mechanizmusáról feltételezik, hogy a leukociták Fc-receptorai felelősek a liposzómák felismeréséért és megkötéséért [16, 35]. Hasonlóképpen aggregált IgM-et tartalmazó liposzómákat hal (dogfish) fagociták 120-szor jobban vettek fel, mint a be nem zárt anyagot, 60-szor jobban, mint a natív IgM-et tartalmazó liposzómát és 50-szer jobban, mint az IgM nélküli liposzómát [128].

b) DNP-Cap-PE-t tartalmazó liposzómákat anti-DNP IgG-vel összehozva az antitest (antigén-kötő végével tapadva) beborítja a liposzómákat, míg Fc-szegmentuma szabadon marad. Ilyen liposzómákkal sikerült metotrexátot specifikusan Fc-receptort tartalmazó tumorsejtekbe (P388, P388D<sub>1</sub>) vinni, ahol hatását kifejtette [67].

c) Hasonlóan haptént tartalmazó liposzómákat sikerült (trinitrobenzol-szulfonáttal) módosított membránú emberi limfocitákhoz, ill. (MOPC 315 és TEPC 15) patkány mieloma sejtekhez irányítani [67].

d) Deszialilált fetuint\* tartalmazó liposzómákat specifikusan máj-parenchima sejtekhez juttattak *in vivo* [38].

e) Koleszterinhez kötött amino-mannózt (vagy amino-gaktózt) tartalmazó liposzómákat szubkután adva a fehérvérsejtek felvételi aránya nagymértékben fokozódott egéren [76].

f) HeLa sejtek, AKR-A egér leukémia sejtek, emberi fibroblasztok 3—25-szor jobban veszik fel a liposzómákat, ha ellenük termelt specifikus antitesteket (IaG) is tartalmaznak [35].

\* fetuin: kis molekulásúlyú glikoprotein, patások magzatának csaknem kizárólagos szérum-fehérjéje.



A liposzómák (specifikus antitestekkel) történő szelektív irányításával kapcsolatban három nagy nehézséget kell (többek között) leküzdeni *in vivo*: 1. meg kell akadályozni, hogy a máj és a lép vegye fel a liposzómákat; 2. nem szabad, hogy plazmafehérjével történő kölcsönhatás következtében a hatóanyag a plazmába lépjen; 3. az irányításnak abszolút specifikusnak kell lenni.

Mindhárom problémára van már (biztató kísérleteken alapuló) megoldási javaslat. Eszerint a máj fagocitáit blokkolni lehet hatóanyagot nem tartalmazó nagy, multilamelláris liposzómákkal [12, 37, 38, 44], a liposzómákat stabilizálni lehet koleszterinnel [1, 65, 109], szfingomielinnel [120] vagy retinállal [17], és a célzott szövetek ellen termelt antitesteket tisztítani lehet (egyéb) szövethomogenizátumokhoz történő adszorbeálással [38]. Mindennek ellenére a fenti problémák leküzdése mégis távolinak tűnik. Legújabban felmerült azonban egy másfajta lehetőség, melynek révén a liposzómák specifikus irányításának megoldása reálisabbnak és közelebbnek látszik. Mint említettük, a  $T_c$ -n a liposzómák permeabilitása maximális, és a szintetikus foszfolipidekkel a  $T_c$  tetszés szerint beállítható. Az „új” megoldás a liposzómák ezen sajátosságán alapul; ha valamely szövet hőmérséklete magasabb a többinél (és megegyezik a liposzómák  $T_c$ -jével) a liposzómák főként ott fogják leadni tartalmukat [110, 131]. Bizonyos szervek, szövetek lokális melegítése mikrohullámú besugárzással a radiológia mindennapos gyakorlata. A „hőérzékeny” liposzómák felhasználása eddig rendkívül hatékonynak bizonyult; egér (solid L1210) tumor esetén a tumorszövet ( $42^\circ\text{C}$ -ra) melegítésével jelentős (14-szeres) metotrexat koncentrációkat sikerült elérni (a nem melegített tumorhoz képest) [127].

### Liposzómák kölcsönhatásai tumorszövetekkel

Mint azt a III. részben láthattuk, néhány állatkísérlet azt bizonyítja, hogy a tumorsejtek fokozottabban veszik fel a citosztatikumot, ha azok liposzómába vannak zárva, ill. hogy a liposzómák a tumorszövetben koncentrálnak [33, 36, 37, 60, 62].

Minél kisebbek a liposzómák, annál nagyobb a tumorszövet felvételi aránya [37]. A jelenség mechanizmusáról feltételezik, hogy egyrészt a tumorsejtek megnövekedett fagocitotikus aktivitása, másrészt a tumorszövet fokozott vaszkularizációja játszik szerepet [36, 42, 44].

Néhány emberre vonatkozó adat: vesetumoros beteg tumorszöveve 50-szer több liposzómát vett fel, mint az ép veseszövet megfelelő mennyisége, máj-, lép- és vastagbél tumor esetén ez az arány 1,3—2—2 volt [30, 36].

A citosztatikumok liposzómába zárásának terápiás hatására vonatkozóan a különböző állatok és tumorok esetén igen eltérő tapasztalatok állnak rendelkezésre. Sok esetben a liposzómába zárás növelte a gyógyszer terápiás hatását; a toxikus mellékhatásokat csökkentette, a túlélést növelte [36, 77, 105, 106]. Más esetekben a „kapszulálás” semmilyen előnyös hatást nem jelentett [66]. Egyes esetekben, ahol a terápiás határfok növekedésével egyidejűleg nem lehetett bizonyítani a tumorszövet fokozott liposzóma felvételét, feltételezik, hogy a liposzóma egyéb jótékony hatásáról van szó, mint pl. hogy prológnált plazmaszintet, csökkent degradációt, ill. vese kiválasztást biztosít [36, 42], vagy az immunrendszert potencirozza [42, 43].



## A liposzómák és az immunrendszer kölcsönhatásai

Többféle (bezárt) fehérje, pl. albumin,  $\gamma$ -globulin, diftéria-toxoid [104] esetén bizonyított, hogy a liposzómák immun-adjuvánsként viselkednek. Ez számos esetben előnyös sajátság, mely pl. az immunizálások területén kihasználható, de bizonyos esetekben hátrányt jelenthet. Így előfordulhat, hogy valamilyen gyenge antigenitású anyagot liposzómában adva váratlan, igen erős immunválaszt kapunk. Az a veszély is fennállhat, hogy ha szubsztitúciós terápiaként valamilyen enzimet liposzómába zárva viszünk a szervezetbe, akkor a fokozottan termelődő antitestek nemcsak a bevitt anyagot hatástalanítják, hanem a meglévő (csökkent) készletet is [38].

Szerencsére a jelenség nem általános, csak a bezárt anyag és a lipid bizonyos variációja esetén fordul elő. Mindenesetre bármilyen anyagot is adunk liposzómába zárva embernek, előzőleg ellenőrizni kell a szervezet immunválasztát.

A liposzómák adjuváns okára vonatkozóan sikerült bizonyítani, hogy a liposzómák felszínére került antigének tartósabb antigén-expozíciót biztosítanak (különösen, ha a nyirokrendszeren keresztül szívódnak fel) az immunsejtek számára [104].

## A liposzómák toxicitása

Bizonyos speciális liposzómák és kísérleti feltételek mellett néhány közlemény a liposzómák káros hatásáról számol be. Így leírták a foszfátidil-szerin liposzómák véralvadást és katekolamin felszabadulást okozó hatását [9, 89], nagy multilamelláris liposzómák tüdőkapilláris-eltömő hatását [44], koleszterin mentes liposzómák limfocita aktiválását gátló hatását [44], intracerebrálisan adott liposzómák epilepsziás rohamokat és szövetelhalást okozó hatását [44]. Ezzel ellentétben hosszú ideig tartó és sokirányú vizsgálatokat magában foglaló állatkísérletekben azt tapasztalták, hogy sem a tojás-lecitin [44], sem a szója-lecitin tartalmú liposzómák [38] átmeneti szérum lipid-szint emelkedésen kívül káros hatást nem okoznak.

Embereken sem írtak le eddig semmilyen (természetes) foszfolipid okozta mellékhatást, pedig egyes — csak intravénásan táplálható — betegek sokszor hosszú időn át naponta kapnak intravénásan foszfolipideket (Intralipid: 10—20%-a foszfolipid), a liposzómában levőnél jóval nagyobb mennyiségben.

## A liposzómák orvosi alkalmazásának lehetőségei a hematológia területén

E helyen szeretnénk kiemelni a hematológiát, mint olyan területet, ahol a liposzómák gyógyító és diagnosztikus felhasználásának — véleményünk szerint — rendkívül nagy jövője van.

A következőkben felsorolnánk azokat a betegségeket és egyéb lehetőségeket, ahol a liposzómák közeli alkalmazásának reális lehetősége van.



## 1. Malignus retikulózis

Mint hogy a liposzómákat főleg éppen azok a sejtek veszik fel a keringésből, amelyek e betegségben kórosan burjánznak, nagy esélye van, hogy a citosztatikumok liposzómában történő adagolása javítani fogja a terápiás hatásfokot.

## 2. Leukémiák

Talán éppen a leukémiákkal kapcsolatban reméljük legjobban, hogy sikerül egyszer szelektíven a kóros fehérvérsejteket elpusztítani. A legújabb tapasztalatok azonban nem sok reményre adnak okot aziránt, hogy ha sikerülne is a leukémiás (kiért és blasztsejtek) szelektív elpusztítása, az a betegnek gyógyulást jelentene. Valószínűül, hogy csakis a leukémiás őssejt szelektív elpusztítása segít, az viszont — jelenlegi ismereteink szerint — megkülönböztethetetlen a normál őssejtektől (L. D. LAJTHA, publikálatlan információ).

Egy lehetőség talán mégis van, amelyben a liposzómák értékes segéd-eszközök lehetnek. Mint említettük, a tumoricid makrofágok képesek abszolút szelektivitással a tumorsejteket felismerni és megölni, és liposzómába zárt makrofág aktiváló faktorról (MAF) sikerült makrofágokat tumoricid makrofággá aktiválni. Talán nem lehetetlen, hogy a csontvelői makrofágokat hasonló módon tumoriciddá aktiválva azok a tumoros őssejteket el fogják pusztítani.

## 3. Policitémia rubra vera

E betegségben a csontvelő fokozott mértékben veszi fel a liposzómákat embereken [106]. Akár a radioaktív foszfor, akár egyéb citosztatikum liposzómába zárása ezért javíthat a terápiás hatásfokon

## 4. Limfómák, HODGKIN-kór, egyéb nyirokrendszer érintő betegségek

Liposzómákat (főként a kis, semleges töltésűeket) a szövetekbe (vagy nyirokérbe) fecskendezve a nyirokutakon és nyirokcsomókon keresztül szívódnak fel [106]. Ez lehetőséget kínál a nyirokrendszer státuszának minden eddiginél jobb diagnosztizálására (<sup>99m</sup>Tc beépítésével és gamma-kamerával), valamint gyógyszerek nyirokszövetbe juttatására.

## 5. Hemofília

Mint az előző részben említettük, a VIII. véralvadási faktor liposzómába zárva *per os* is felszívódott és elhúzódó szérumszintet biztosított [47].

## 6. Sarlósejtes anémia

Néhány tri- és tetrapeptid a hemoglobin gelifikációt meggátolva gátolja a sarlósejt képződést [126]. Liposzómával sikerült már a membránon át nem hatoló anyagot vvs-be vinni [83]. Van tehát esélye annak is, hogy ezeket a peptideket is be tudjuk vinni vvs-be.

## 7. Anoxiás betegségek, vérkonzerválás, vérfiatalítás

Inozitol-hexafoszfátot liposzómával vörösvérsejtbe juttatva a hemoglobin  $O_2$ -affinitása jelentősen csökken, és így a vvs-ek  $O_2$ -leadó képessége a szövetekben javul [83].

Talán nemcsak fantázia az a lehetőség, hogy valamilyen anoxiát okozó betegségben szenvedő ember (pl. tüdőbetegségek) szöveteinek  $O_2$ -ellátottságát javítani lehet pl. úgy, hogy időről időre vörösvérsejtjeinek egy részében a hemoglobin  $O_2$ -affinitását e módszerrel csökkentjük.

A módszer alkalmas továbbá vérkonzervek tárolási idejének meghosszabbítására, valamint előregedett vörösvérsejtek fiatalítására is. Ez utóbbi lehetőség a friss vérellátás nehézségeit könnyítheti meg.

A fentiekben kiemelt és részletezett alkalmazási területek nem azt jelentik, hogy csak e területeken remélhető a liposzómák orvosi alkalmazása. Az inzulin *per os* adagolása, az enzim-hiánybetegségek gyógyításának lehetősége, a szívinfarktus jobb diagnosztizálása és szelektív gyógykezelése, a fertőzések elleni hatékonyabb immunizálás, a lokális szteroid adagolás jobb terápiás határfoka, a hatékonyabb interferon termelés, a tumorok gyógyítása makrofág aktiválással, de a membrán-immunoassay bevezetése is mind rendkívül lelkesítő perspektíva. A „klinikai” liposzóma-kutatás jelenleg olyan fázisban van, mint a kemoterápia hőskora: minden liposzóma-gyógyszer kombinációt érdemes kipróbálni néhány kedvező eredmény reményében.

### Köszönetnyilvánítás

Szeretnénk megköszönni HOLLÁN ZSUZSA professzorasszonynak e munka kezdeményezését és támogatását. Köszönettel tartozunk továbbá SIMON GYÖRGYNEK, GYÖRGYI SÁNDORNAK, BREUER JUDITNAK, SZÁSZ ILMÁNAK, SUGÁR ISTVÁNNAK, ERDEI LÁSZLÓNAK és DUDA ERNŐNEK az értékes szakmai tanácsokért.

### IRODALOM

1. ALLEN, T. M. and CLELAND, L. G. (1980) Serum-induced leakage of liposome contents. *BBA*, **597**, 418—426.
2. ALMEIDA, J., BARND, C. M., EDWARDS, D. C. and HEATH, T. D. (1975) Formation of virosomes from influenza subunits and liposomes. *Lancet*, **7941**, 899—901.
3. ALVING, C. R., HABIG, W. H., URBAN, K. A. and HARDEGREE, M. C. (1979) Cholesterol-dependent tetanolysin damage to liposomes. *BBA*, **551**, 224—228.
4. ALVING, C. R. and STECK, E. A. (1979) The use of liposome-encapsulated drugs in leishmaniasis. *Trends in Biochemical Sciences*, **4**, 175—177.
5. ANNER, B. M., LANE, L. K., SCHWARTZ, A. and PITTS, B. J. (1977) A reconstituted  $Na^+$ - $K^+$  pump in liposomes containing purified  $(Na^+-K^+)$ -ATP-ase from kidney medulla. *BBA*, **467**, 340—345.
6. BANGHAM, A. D. and HORNE, R. W. (1964) Negative staining of phospholipids and their structural modification by surface-active agents as observed in the electron microscope. *J. Mol. Biol.*, **8**, 660—668.
7. BANGHAM, A. D., STANDTICH, M. M. and MILLER, N. (1965) Cation permeability of phospholipid model membranes. Effect of narcotics. *Nature*, **208**, 1295—1297.
8. BATZRI, S. and KORN, E. D. (1973) Single bilayer liposomes prepared without sonication. *BBA*, **298**, 1015—1019.
9. BRUNI, A. G., TOFFANO, G., LEON, A. and BOARATE, E. (1976) Pharmacological effects of phosphatidyl-serine liposomes. *Nature*, **260**, 331—333.



10. BRENDZEL, A. M. and MILLER, I. F. (1980) Liposome filtration dependence on transition temperature. *BBA*, **596**, 129—136.
11. BRUNNER, J., SKRABAL, P. and HAUSER, H. (1976) Single bilayer vesicles prepared without sonication. Physicochemical properties. *BBA*, **455**, 322—331.
12. CARIDE, V. J., TAYLOR, W., CREMER, J. A. and GOTTSCHALK, A. (1976) Evaluation of liposome entrapped radioactive tracers as scanning agents. *J. Nucl. Med.* **17**, 1067—1072.
13. CARIDE, V. J. and ZARET, B. (1977) Liposome accumulation in regions of experimental myocardial infarction. *Science*, **198**, 735—737.
14. CERBON, J. (1972) NMR evidence for hydrophobic interaction of local anaesthetics. *BBA*, **29**, 51—57.
15. CHAPMAN, D. (1980) Studies using model biomembrane systems. In: BITTAR, E. E. (ed.): *Membrane structure and function*. vol. 1. Wiley & Sons, New York—Chichester—Toronto, 103—152.
16. COCHEN, C. M., WEISSMANN, G., HOFFSTEIN, S. (1976) Introduction of purified hexosaminidase-A into Tay-Sachs leukocytes by means of immun-globulin. *Biochemistry*, **15**, 452—460.
17. CONRAD, D. H., ALVING, C. R. and WISTZ, G. H. (1973) The influence of retinal on complement-dependent immune damage to liposomes. *BBA*, **332**, 36—46.
18. DAHLQUIST, F. W., MUCHMORE, D. C., DAVIS, J. H. and BLOOM, M. (1977) Deuterium magnetic resonance studies of the interaction of lipids with membrane proteins. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **74**, 5435—5439.
19. DAPERGOLAS, G. and GREGORIADIS, G. (1976) Hypoglycaemic effect of liposome-entrapped insulin administered intragastrically into rats. *Lancet*, **2**, 824—827.
20. DAPERGOLAS, G., NEERUNJUN, E. D. and PAPAHDJOPOULOS, D. (1976) Penetration of target areas in the rat by liposome associated bleomycin, glucose oxidase and insulin. *FEBS Lett.*, **63**, 235—238.
21. DEAMER, D. and BANGHAM, A. D. (1976) Large volume liposomes by an ether vaporization method. *BBA*, **443**, 629—634.
22. DEAMER, D. W. (1978) Preparation and properties of ether-injection liposomes. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **308**, 250—258.
23. DIJK, P. W. VAN, DE KRUIJFF, B., AARTS, P. A. M. M., VERKLEIJ, A. J. and GIER, J. DE (1978) Phase transitions in phospholipid model membranes of different curvature. *BBA*, **506**, 183—191.
24. DINGLE, J. T., GORDON, J. L., HAZLEMAN, B. L., KNIGHT, C. G., PAGE THOMAS, D. P., PHILLIPS, N. C., SHAW, I. H., FILDES, F. J., OLIVER, J. E., JONES, G., TURNER, E. H. and LOWE, J. S. (1978) Novel treatment for joint inflammation. *Nature*, **271**, 372—373.
25. DOUGAL, I. R. MC, DUNNICK, J. K., NAMEE, M. G. MC and KRISS, J. P. (1974) Distribution and fate of synthetic lipid vesicles in the mouse. A combined radionucleide and spin label study. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, **71**, 3487—3491.
26. DOUGAL, I. R. MC, DUNNICK, J. K., GORIS, M. L. and KRISS, J. P. (1975) *In vivo* distribution of vesicles loaded with radiopharmaceuticals: a study of different routes of administration. *J. Nucl. Med.*, **16**, 488—491.
27. DUNHAM, P., BABIARZ, P., IZRAEL, A., ZERIAL, A. and WEISSMANN, G. (1977) Membrane fusion: studies with a calcium-sensitive dye, arsenazo-III in liposomes. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **74**, 1580—1584.
28. FENDLER, J. H. and ROMERO, A. (1977) Liposome as drug carriers. *Life Sci.*, **20**, 1109—1120.
29. FIDLER, I. J. (1980) Therapy of spontaneous metastases by intravenous injection of liposomes containing lymphokines. *Science*, **208**, 1469—1471.
30. FINKELSTEIN, M. and WEISSMANN, G. (1978) The introduction of enzymes into cells by means of liposomes. *J. Lipid Research*, **19**, 289—303.
31. FISCHMAN, P., MOSS, J., RICHARDS, R., BRODY, R. O. and ALVING, C. R. (1979) Liposomes as model membranes for ligand-receptor interactions: studies with cholera toxin and glycolipids. *Biochemistry*, **18**, 2562—2567.
32. FRANKS, N. P. and LIER, W. R. (1979) The structure of lipid bilayers and the effects of general anaesthetics. *J. Mol. Biol.*, **13**, 469—500.
33. GREGORIADIS, G. (1973) Drug entrapment in liposomes. *FEBS Lett.*, **36**, 292—296.
34. GREGORIADIS, G. and NEERUNJUN, D. E. (1974) Control of the rate of hepatic uptake and catabolism of liposome entrapped proteins injected into rats: possible therapeutic applications. *Eur. J. Biochem.*, **47**, 179—185.
35. GREGORIADIS, G. and NEERUNJUN, E. D. (1975) Homing of liposomes to target cells. *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, **65**, 537—544.



36. GREGORIADIS, G., AWAIN, C. P., WILLS, E. J. and TAVILL A. S. (1976) Drug-carrier potential of liposomes in cancer chemotherapy. *Lancet*, **1**, 1313—1316.
37. GREGORIADIS, G., NEERUNJUN, D. E. and HUNT, R. (1977) Fate of a liposome-associated agent injected into normal and tumor-bearing rodents. Attempts to improve localisation in tumor tissues. *Life Sci.*, **21**, 357—370.
38. GREGORIADIS, G. (1978) Liposomes in therapeutic and preventive medicine, The development of the drug-carrier concept. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **308**, 343—370.
39. GREGORIADIS, G. (ed.) (1979) *Drug carriers in biology and medicine*. Academic Press, London—New York.
40. GREGORIADIS, G. and ALLISON, A. (ed.) (1979) *Uses of liposomes in biology and medicine*. Wiley & Sons, London.
41. GREGORIADIS, G. and DAVIS, C. (1979) Stability of liposomes *in vivo* and *in vitro* is promoted by their cholesterol content in the presence of blood cells. *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, **89**, 1287—1293.
42. GREGORIADIS, G. (1980) Tailoring liposome structure. *Nature*, **283**, 814—815.
43. GREGORIADIS, G. (1980) Liposomes in drug targeting. In: CELIS, J. E., GRAESSMANN, A. and LOYTER, A. (eds.): *Transfer of cell constituents into eukaryotic cells*. Plenum Publishing Corporation, New York, 173—199.
44. GREGORIADIS, G. and ALLISON, A. C. (eds.) (1980) *Liposomes in biological systems*. Wiley & Sons, London
45. HAAKER, H. and RACKER, E. (1979) Purification and reconstitution of the Ca<sup>2+</sup>-ATP-ase from plasma membranes of pig erythrocytes. *J. Biol. Chem.*, **254**, 6598—6602.
46. HELMKAMP, G. (1980) Interaction of bovine brain phospholipid exchange protein with liposomes of different lipid composition. *BBA*, **595**, 222—234.
47. HEMKER, H. C., HERMENS, W. T., MULLER, A. D. and ZWAAL, R. F. A (1980) Oral treatment of haemophilia A by gastrointestinal absorption of factor VIII entrapped in liposomes. *Lancet*, **8159**, 70—73.
48. HESKETH, T. R., DOURMASHKIN, R. R., PAYNER, S. N., HUMPHREY, J. H. and LACHMANN, P. J. (1971) Lesions due to complement in lipid membranes. *Nature*, **233**, 620—623.
49. HILL, M. W. (1978) Interaction of lipid vesicles with anaesthetics. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **308**, 101—110.
50. HODIN, L. E. and DIXON, J. F. (1979) Parameters of reconstituted Na<sup>+</sup> and K<sup>+</sup> transport in liposomes in which purified Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATP-ase is incorporated by „freeze-thaw-sonication”. In: SKOU, J. C. and NORBY, J. G. (eds.): *Structure and kinetics*. Academic Press, London, 47—67.
51. HSIA, C. H. and TAN, C. T. (1978) Membrane immunoassay: principle and applications of spin membrane immunoassay. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **308**, 139—148.
52. HUANG, C. and MASON, J. T. (1978) Geometric packing constraints in egg phosphatidylcholine vesicles. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **75**, 308—310.
53. HUGHEY, R. P., COYLE, P. J. and CUOTHOYS (1979) Comparison of the association and orientation of  $\gamma$ -glutamyl-transpeptidase in lecithin vesicles and in native membranes. *J. Biol. Chem.*, **254**, 1124—1128.
54. JAIN, M. K. and WAGNER R. C. (eds.) (1979) *Introduction to biological membranes. Phase properties of bilayers*. New York, Chichester, Brisbane, Toronto. 87—116.
55. JONAH, M. M., CERNY, E. A. and RAHMAN Y. E. (1975) Tissue distribution of EDTA encapsulated within liposomes of varying surface properties. *BBA*, **401**, 336—348.
56. JOST, P. C., GRIFFITH, D. H., CAPALDY, R. A. and VANDERKOSI (1973) Evidence for boundary lipid in membranes. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, **70**, 480—484.
57. JULIANO, R. L. and STAMP, D. (1975) The effect of particle size and charge on the clearance rates of liposomes and liposome encapsulated drugs. *Biophys. Res. Comm.*, **63**, 651—658.
58. JULIANO, R. L. and STAMP, D. (1976) Lectin-mediated attachment of glycoprotein-bearing liposomes to cells. *Nature*, **261**, 235—238.
59. KATAOKA, T., WILLIAMSON, J. R. and KINSKY, S. C. (1973) Release of macromolecular markers (enzymes) from liposomes treated with antibody and complement. An attempt at correlation with electron microscopic observations. *BBA*, **298**, 158—179.
60. KIMELBERG, H. K., MAYHEX, E. and PAPAHDJOPOULOS, D. (1975) Distribution of liposome entrapped cations in tumor bearing mice. *Life Sci.*, **17**, 715—724.
61. KIMELBERG, H. K. (1976) Protein-liposome interactions and their relevance to the structure and function of cell membranes. *Mol. Cell. Biochem.*, **10**, 171—190.
62. KIMELBERG, H. K. (1976) Differential distribution of liposome entrapped (<sup>3</sup>H)-methotrexate and labelled lipids after intravenous injection in a primate. *BBA*, **448**, 531—550.
63. KINSKY, S. C. (1978) Immunogenicity of liposomal model membranes. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **308**, 111—123.



64. KIRBY, C., CLARKE, J. and GREGORIADIS, G. (1980) Effect of the cholesterol content of small unilamellar liposomes on their stability *in vivo* and *in vitro*. *Biochem. J.*, **186**, 591—598.
65. KIRBY, C., CLARKE, J. and GREGORIADIS, G. (1980) Cholesterol content of small unilamellar liposomes controls phospholipid loss to high density lipoproteins in the presence of serum. *FEBS Letters*, **111**, 324—328.
66. LAYTON, D. and TROUET, A. (1980) A comparison of the therapeutic effects of free and liposomally encapsulated vincristine in leukemic mice. *Eur. J. Cancer*, **16**, 945—950.
67. LESERMAN, L. D., WEINSTEIN, J. N., BLUMENTHAL, R. and TERRY, W. D. (1980) Receptor-mediated endocytosis of antibody opsonised liposomes by tumor cells. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **77**, 4089—4093.
68. LEVIS, J. T. and McCONNEL, H. M. (1978) Model lipid bilayer membranes as targets for antibody dependent, cellular and complement mediated immune attack. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **308**, 124—138.
69. LILJENFORS, B. and LÖFGREN, H. (1980) Sodium ion diffusion through liposome membranes containing cerebroside. *Chem. Phys. Lipids*, **26**, 111—120.
70. LOW, M. G. and ZILVERSMIT, D. B. (1980) Phosphatidylinositol distribution and translocation in sonicated vesicles. A study with exchange protein and phospholipase C. *BBA*, **596**, 223—234.
71. MAGEE, W. E., TALCOTT, M. L., STRAUB, S. X. and VRIEND, C. Y. (1976) A comparison of negatively and positively charged liposomes containing entrapped polyinosinic, polycytidylic acid for interferon induction in mice. *BBA*, **451**, 610—618.
72. MAGEE, W. E. (1978) Potentiation of interferon production and stimulation of lymphocytes by polyribonucleotides entrapped in liposomes. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **308**, 308—324.
73. MARTIN, F. J. and McDONALD, R. C. (1976) Lipid vesicle-cell interaction. I. Hemagglutination and hemolysis. *J. Cell Biol.*, **70**, 495—505.
74. MARTIN, F. J. and McDONALD, R. C. (1976) Lipid vesicle-cell interactions. II. Induction of cell fusion. *J. Cell Biol.*, **70**, 506—514.
75. MASON, J. T. and HUANG, C. (1978) Hydrodynamic analysis of egg phosphatidyl-choline vesicles. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **308**, 29—49.
76. MAUK, M. R., CAMBLE, R. C. and BALDESCHWIELER, J. D. (1980) Vesicle targeting: timed release and specificity for leukocytes in mice by subcutaneous injection. *Science*, **207**, 309—311.
77. MAYHEW, E., PAPAHDJOPOULOS, D., RUSTUM, Y. M. and DAVE, C. (1978) Use of liposomes for the enhancement of the cytotoxic effects of cytosine arabinoside. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **308**, 371—386.
78. MAYHEW, E., RUSTUM, Y. M., SZOKA, F. and PAPAHDJOPOULOS, D. (1979) Role of cholesterol in enhancing the antitumor activity of cytosine-arabinoside entrapped in liposomes. *Cancer Treat. Rep.*, **63**, 1923—1928.
79. MEZEL, M. and GULASEKHARAM, V. (1980) Liposomes as selective drug delivery system for the topical route of administration. *Life Sci.*, **26**, 1473—1477.
80. MILSMANN, M. H., SCHWENDENER, R. A. and WDER, H. (1978) The preparation of large single bilayer liposomes by a fast and controlled dialysis. *BBA*, **512**, 147—155.
81. MOSS, J., RICHARDS, R. L., ALVING, C. R. and FISCHMANN, P. (1977) Effect of the a and b protomers of cholera toxin on release of trapped glucose from liposomes containing or lacking ganglioside G<sub>M1</sub>. *J. Biol. Chem.*, **252**, 787—798.
82. NAGLE, J. F. and SCOTT, H. L. (1978) Lateral compressibility of lipid mono- and bilayers. Theory of membrane permeability. *BBA*, **513**, 236—243.
83. NICOLAU, C. and GERSONDE, K. (1979) Incorporation of inositol hexaphosphate into intact red blood cells. *Naturwissenschaften*, **66**, 563—566.
84. NICOLOTTI, R. A. and KINSKY, S. C. (1975) Immunogenicity of liposomal model membranes sensitized with mono-(p-azobenzene-arsonic-acid)-e-tyrosyl-phosphatidyl-ethanolamine derivatives: antibody formation and delayed hypersensitivity reaction. *Biochemistry*, **14**, 2331—2337.
85. OLSON, F. C., HUNT, A., SZOKA, F. C., VAIL, W. J. and PAPAHDJOPOULOS, D. (1979) Preparation of liposomes of defined size distribution by extrusion through polycarbonate membranes. *BBA*, **557**, 9—23.
86. ONJI, T. and LIU, M. S. (1977) Changes in surface charge density on liposomes induced by *Escherichia coli* endotoxin. *BBA*, **558**, 320—324.
87. PACUSZKA, T., OSBORNE, J., BRODY, R. O. and FISCHMAN, P. H. (1978) Interaction of human chorionic gonadotropin with membrane components of rat testis. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **75**, 764—768.



88. PAGANO, R. E. and WEINSTEIN, J. N. (1978) Interaction of liposomes with mammalian cells. *Ann. Rev. Biophys. Bioeng.*, **7**, 435—468.
89. PAPAHDJOPOULOS, D., HOUCIE, C. and HANAHAN, D. J. (1962) Influence of surface charge of phospholipids on their clot promoting activity. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **111**, 412—416.
90. PAPAHDJOPOULOS, D. and WATKINS, J. C. (1967) Phospholipid model membranes. II. Permeability properties of hydrated liquid crystals. *BBA*, **135**, 639—652.
91. PAPAHDJOPOULOS, D., COWDEN, M. and KIMELBERG, H. (1973) Role of cholesterol in membranes. Effects on phospholipid-protein interactions, membrane permeability and enzymatic activity. *BBA*, **330**, 8—26.
92. PAPAHDJOPOULOS, D., POSTE, G., SCHAEFFER, B. E. and VAIL, W. J. (1974) Membrane fusion and molecular segregation in phospholipid vesicles. *BBA*, **352**, 10—28.
93. PAPAHDJOPOULOS, D., VAIL, W. J., NEWTON, C., NIR, S., JACOBSON, V., POSTE, G. and LAZO, R. (1977) Studies on membrane fusion. III. The role of calcium-induced phase changes. *BBA*, **465**, 579—598.
94. PAPAHDJOPOULOS, D. (ed.) (1978) Liposomes and their uses in biology and medicine. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **308**, 1—462.
95. PAPAHDJOPOULOS, D. and PORTIS, A. (1978) Calcium-induced lipid phase transitions and membrane fusion. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **308**, 50—66.
96. PAPAHDJOPOULOS, D. and VAIL, W. J. (1978) Incorporation of macromolecules within large unilamellar vesicles (LUV). *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **308**, 259—274.
97. PAPAHDJOPOULOS, D., VAIL, W. J., JACOBSON, K. and POSTE, G. (1978) Cochleate cylinders: formation by fusion of unilamellar lipid vesicles. *BBA*, **394**, 483—491.
98. PIET, W. M., VAN DIJCK, NICOLAY, K., LENNISSEN, J. and VAN DAVN, K. (1976) Bacteriorhodopsin in phospholipid vesicles. Membrane Course, Basel, 1980. IX. 14—28.
99. POSTE, G. PAPAHDJOPOULOS, D. and VAIL, W. J. (1976) Lipid vesicles as carriers for introducing biologically active materials into cells. *Methods Cell Biol.*, **14**, 33—71.
100. RACKER, E. (1972) Reconstitution of calcium pump with phospholipids and a purified  $\text{Ca}^{2+}$ -adenosine triphosphatase from sarcoplasmic reticulum. *J. Biol. Chem.*, **247**, 8198—8200.
101. RAHMAN, Y., ROSENTHAL, M. W. and CERUY, E. A. (1973) Intracellular plutonium: removal by liposome-encapsulated chelating agent. *Science*, **180**, 300—302.
102. RANDO, R. R. and BANGERTER, F. W. (1979) Threshold effects on the lectin-mediated aggregation of synthetic glycolipid-containing liposomes. *J. Supramol. Struct.*, **11**, 295—309.
103. REIBER, H. (1978) Cholesterol-lipid interactions in membranes. *BBA*, **512**, 72—83.
104. ROOLJEN, N. and NIEUWMEGEN, R. (1980) Liposomes in immunology: evidence that their adjuvant effect results from surface exposition of the antigens. *Cell. Immun.*, **49**, 402—407.
105. RUSTUM, W. M., DAVE, C., MAYHEV, E. G., (1979) Role of liposome type and route of administration in the antitumor activity of liposome-entrapped 1- $\beta$ -D-arabinosyl-furanosylcytosine against mouse L1210 leukemia. *Cancer Res.*, **39**, 1390—1395.
106. RYMAN, B. E., JEWKES, R. F. JEYASINGH, K., OSBORNE, M. P., PATEL, H. M., RICHARDSON, V. J., TATTERSALL, M. H. N. and TYRELL, O. A. (1978) Potential applications of liposomes to therapy. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **308**, 281—307.
107. SAKANISKI, A., MITAKU, S., and IDEGAMI, A. (1971) Stabilizing effect of cholesterol on phosphatidyl-choline vesicles observed by ultrasonic velocity measurement. *Biochemistry*, **12**, 2636—2642.
108. SCARPA, A. and DE GIER, J. (1971) Cation permeability of liposomes as a function of the chemical composition of the lipid bilayers. *BBA*, **241**, 789—797.
109. SCHERPKOF, F., ROERDINK, F., WAITS, M. and PARKS, J. (1978) Desintegration of phosphatidylcholine liposomes in plasma as a result of interaction with high-density-lipoproteins. *BBA*, **542**, 296—307.
110. SCHERPHOF, G., MORSELT, H., REGTS, J. and WILSCHUT, J. C. (1979) The involvement of the lipid phase transition in the plasma-induced dissolution of multilamellar phosphatidylcholine vesicles. *BBA*, **556**, 196—207.
111. SHAW, I. H., KNIGHT, G. and DINGLE, J. T. (1976) Liposomal retention of a modified anti-inflammatory steroid. *Biochem. J.*, **158**, 473—476.
112. SESSA, G., WEISSMANN, G. (1968) Differential effects of ethiocholanolone on phospholipid/cholesterol structures containing either testosterone or estradiol. *BBA*, **150**, 173—180.
113. SIKKA, S. C., KALR, V. K. (1980) Gamma-glutamyl-transpeptidase mediated transport of amino acid in lecithin vesicles. *J. Biol. Chem.*, **225**, 4399—4402.
114. SLACK, J., ANDERTON, B. and DAY, W. A. (1973) A new method for making phospholipid vesicles and the partial reconstitution of the  $(\text{Na}^+ - \text{K}^+)$ -activated ATP-ase. *BBA*, **323**, 547—559.



115. SONE, N., YOSHIDA, M., HIRATA, H. and KAGAWA, Y. (1977) Adenosine triphosphatase synthesis by electrochemical proton gradient in vesicles reconstituted from purified adenosine triphosphatase and phospholipids of thermophilic bacterium. *J. Biol. Chem.*, **10**, 2956—2960.
116. SONE, S., POSTE, G. and FIDLER, I. (1980) Rat alveolar macrophages are susceptible to activation by free and liposome encapsulated lymphokines. *J. Immunology*, **124**, 2197—2202.
117. STEGER, L. D. and DESNICK, R. J. (1977) Enzyme therapy. VI. Comparative *in vivo* fates and effects on lysosomal integrity of enzyme entrapped in negatively and positively charged liposomes. *BBA*, **464**, 530—546.
118. SUGÁR, I. (1979) A BLM konformációs változásai és ezek hatása az áramfeszültség karakterisztika alakulására. *MTA Biol. Oszt. Közl.*, **22**, 145—155.
119. SZOKA, F. C. and PAPAHAJDOPOULOS, D. (1978) Procedure for preparation of liposomes with large internal aqueous space and high capture by reverse phase evaporation. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **75**, 4194—4198.
120. SZOKA, F. and PAPAHAJDOPOULOS, D. (1980) Comparative properties and methods of preparation of lipid vesicles (liposomes). *Ann. Rev. Biophys. Bioeng.*, **9**, 467—508.
121. TOKUTOMI, S., OHKI, K. and OHNISHI, S. (1980) Proton induced phase separation in phosphatidylserine/phosphatidylcholine membranes. *BBA*, **596**, 192—200.
122. TÓKÉS, Z. A., KULCSÁR, A., PÉTERI, S. and TODD, J. A. (1980) Availability of liposome content to the nervous system. Liposomes and the blood-brain barrier. *Brain Research*, **188**, 282—286.
123. TRÄUBLE, H. and HAYVES, D. (1971) The volume changes in lipid bilayer lamellae at the crystalline-liquid crystalline phase transition. *Chem. Phys. Lipids*, **7**, 324—335.
124. TYRELL, D. A., HEATH, T. D., COLLEY, C. M. and RYMAN, B. E. (1976) New aspects of liposomes. *BBA*, **457**, 295—302.
125. VAIL, W. J. and STOLLERY, J. G. (1979) Phase changes of cardiolipin vesicles mediated by divalent cations. *BBA*, **551**, 74—84.
126. VOTANO, J. R., GORECKI, M. and RICH, A. (1977) Sickle hemoglobin aggregation: a new class of inhibitors. *Science*, **196**, 1216—1219.
127. WEINSTEIN, J. N., MAGIN, R. L., CYSYK, R. L. and ZAHARO, D. S. (1980) Treatment of solid L1210 murine tumors with local hyperthermia and temperature-sensitive liposomes containing methotrexate. *Cancer Res.*, **40**, 1388—1395.
128. WEISMANN, G., BLOOMGARDEN, D., KAPLAN, COHEN, C., HOFFSTEIN, S., COLLINS, T., GOTLIEB, A. and WAGLE, D. (1975) A general method for the introduction of enzymes by means of immunoglobulin-coated liposomes into lysosomes of deficient cells. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **72**, 88—92.
129. WIKMAN-COFFELT, J., LEUNG, J. and MASON, D. (1980) *In vivo* localisation of liposomes in skeletal and cardiac muscle following experimental coronary ligation in guinea pigs. *Biochem. Med.*, **23**, 87—93.
130. WIRTZ, K. W. A., VRIEND, G. and WESTER, J. (1979) Kinetic analysis of the interaction of the phosphatidylcholine exchange protein with unilamellar vesicles and multilamellar liposomes. *Eur. J. Biochem.*, **94**, 215—221.
131. YATVIN, M. B., WEINSTEIN, J. N., DENNIS, W. H. and BLUMENTHAL, R. (1978) Design of liposomes for enhanced local release of drugs by hyperthermia. *Science*, **202**, 1290—1292.
132. ZILVERSMIT, D. B. (1978) Phospholipid-exchange proteins as membrane probes. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **308**, 149—163.

PHOSPHOLIPID VESICLES (LIPOSOMES)  
IN GROUND RESEARCH AND IN MEDICAL PRACTICE

Szebeni, J. and \*Báthori, G.

National Institute of Hematology and Blood Transfusion,  
\*Institute of Biophysics, Semmelweis University of Medicine,  
Budapest, Hungary

Phospholipid vesicles (liposomes) have been used for a long time as model system for studying biological membranes. Recently beside this field liposomes have attracted wide interest as agent-vehicles for targeting or modifying drug action.

The present work tries to summarize the main results, observations in these two areas of research. The following topics are reviewed briefly: lipid components, classification, nomenclature and modes of preparation of liposomes, comparison of the different kinds of lipid vesicles, stability and storage properties of them, biophysical problems, questions, in which (among others) liposomes have been used as model systems, namely; phase transition, phase separation, permeability and fusion of bilayers, geometric packing, hydration, mobility and intramolecular changes of phospholipids, interactions of liposomes with cations, lectins, toxins, observations concerning the effectiveness of liposome application. At last we discuss the *in vivo* fate of liposomes, possible modes of selective targeting, interactions of them with tumor tissues and the immune system, toxicity and finally some potential applications of liposomes in the field of hematology.



## A FLUORID BIOLÓGIAI SZEREPE ÉS JELENTŐSÉGE

BOROS ILDIKÓ

Semmelweis Orvostudományi Egyetem  
Fogorvostudományi Karának Orálbiológiai Csoportja,  
Budapest

Beérkezett: 1980. november 10-én

*Kulcsszavak:* fluorid-felszívódás, -megoszlás, -kiválasztás, dentális caries és az osteoporosis

A fluorid-ion biológiai jelentőségét fiziológiai hatásaival kapcsolatos, napjainkban egyre kiterjedtebben folyó kutatások is alátámasztják. Bár a szervezet anyagcseréjében betöltött szerepével kapcsolatban vannak még „fehér foltok”, az azonban már senki előtt nem lehet kétséges, hogy a fluorid bizonyos határok között kedvezően befolyásolja a fog kemény szöveteinek struktúráját és ilyen módon caries gátló hatású [1, 2]. A fluorid a kalciumfoszfáthoz való igen nagyfokú affinitása következtében minden kalcifikációs képességgel rendelkező szövetbe beépül. A csontokba beépülő és ott felhalmozódó fluorid növeli az apatit kristályok méretét, csökkenti oldékonyságukat, ezáltal csontstabilizáló hatású. Kétségtelen viszont, hogy a szervezet számára optimális mennyiséget meghaladó fluoridbevitel esetén a fluorid káros hatásaival is számolnunk kell. A fluoridtartalmú vegyületek egyre növekvő ipari felhasználása jelentősen növelheti ilyen káros hatások létrejöttének esélyét. Ezért a fluoriddal kapcsolatban világszerte jelenleg folyó vizsgálatok egyik fő iránya a fluorid szervezetre gyakorolt általános és metabolikus hatásainak tisztázása. A fluor a földkéreg egyik legbőségesebben előforduló eleme, a szervezetben azonban csak nyomokban mutatható ki. Sokan a szervezet számára nélkülözhetetlen mikroelemek közé sorolják [53], mások ezt kétségbe vonják. A cariesnek jobban ellenálló fogzománc képződéséhez azonban nyilvánvalóan nélkülözhetetlen és egyes feltételezések szerint a normális reprodukcióhoz is szükséges bizonyos mennyiségű fluorid. Csökkent fluorid-bevitel microcytaer, hypochrom anaemiát okoz, mivel fluorid hiányában a vasszívódás csökken. Fluoridra a kísérleti állatok növekedéséhez is szükség van, bár STOOKEY patkányon végzett vizsgálatai [61] ezt nem erősítették meg.

### A szervezet fluoridforgalma

#### *A szervezet fluorid ellátottságát biztosító források*

A fluor biológiai hatása és jelentősége vegyületeinek kémiai sajátosságaitól nagymértékben függ. A fluor nagy reakcióképessége miatt szinte valamilyen elemmel képez vegyületet és számos ionnal komplexet. Az ismert fluorvegyületek száma jelenleg meghaladja a hatszázat. A fluoridforrásokat két fő csoportba szokás osztani.



*Egyetemes* források:

- ivóvíz,
- táplálék,
- levegő.

*Fakultatív* források:

- a fogorvosi gyakorlatban használatos fluoridot tartalmazó szerek és a dentális caries megelőzésére alkalmazott különböző fluoridúsítási eljárások,
- fluorid tartalmú gyógyszerek,
- a fluor ipari felhasználásánál alkalmazott vegyületek.

Az ivóvízzel szervezetbe kerülő fluorid mennyisége tág határok között változhat (0,1—10 ppm/die). Emellett figyelembe kell vennünk, hogy a vízfelvétel mértéke is változhat a földrajzi helyzettől, az évszaktól, a végzett munka jellegétől, az életkortól és bizonyos individuális sajátosságoktól függően. A geológiai viszonyok különbözőségéből adódóan a víz összetétele és fluoridkoncentrációja eltérő. Hazai vizsgálatok is megerősítik, hogy Magyarország egyes részein az ivóvíz fluoridtartalma különböző. Kunszentmárton környékén például (számos artézi forrás található itt) az ivóvíz átlagos fluoridkoncentrációja a caries-preventív dózishoz megfelelő 1 ppm körüli érték, míg más vidékeken ennél jóval alacsonyabb koncentrációban tartalmaz fluoridot az ivóvíz [66].

A táplálék útján felvett fluorid mennyisége is széles határok között ingadozik. Hazánkban, szárazanyagra vonatkoztatva, a táplálék átlagosan 0,5 ppm fluoridot tartalmaz [69]. AUERMANN és BORRIS vizsgálatai szerint [6] közel lineáris korreláció mutatható ki a kalóriabevitel és a fluoridfelvétel között. Különösen magas egyes teafélék fluoridtartalma. Az ilyen teafőzetek fluoridtartalma akár 2 ppm fölé is emelkedhet, így bőséges teafogyasztás esetén napi 1 mg fluoridbevitel származhat ebből az egyedüli forrásból. Egyes állati eredetű termékek fluoridtartalma is számottevő lehet. A csirkehús száraz anyagra számítva 1,4 ppm, a marhahús 0,2—2,0 ppm, a sertéshús 0,2—3,3 ppm fluoridot tartalmaz, míg bizonyos halféléseknek ennél is magasabb a fluoridtartalma [62]. Figyelembe kell vennünk, hogy a főzéshez használt ivóvíz fluoridtartalma a kész ételféleség fluoridtartalmához hozzáadódik, s emellett forralás hatására a fluoridot tartalmazó oldat bekoncentrálódik. Említésre érdemes, hogy még a főzésre használt edények anyaga sem közömbös a fluoridbevitel szempontjából. Alumínium edényben forralva a vizet, annak fluoridtartalma kifejezett csökkenést mutat, ugyanezt teflon edényben megismételve a táplálék minta fluoridtartalma növekszik.

A levegő fluoridtartalma ugyancsak több helyről származhat. A fluort tartalmazó talajból kikerülő szilárd részecskék, a vulkanikus gőz és egyes iparvidékek körzetében (alumínium kohók) az atmoszférába kerülő ipari szennyező anyagok képezik a levegő fluoridtartalmának fő forrását. Lakott területen a szénfüstből származik a levegő fluoridtartalmának nagy része. Ha azonban a levegőben kevesebb mint 10 ppb a fluorid mennyisége, a légzés útján szervezetbe kerülő fluorid mennyisége nem több mint 0,2 mg/die.

Amikor a fluorid szervezetre gyakorolt hatásait vizsgáljuk, a természetes forrásokból származó összes fluorid mennyiséget kell figyelembe vennünk. Anglia olyan vidékein, ahol az ivóvíz átlagos fluoridtartalma 1 ppm, a napi össz fluoridfelvétel mintegy 2,5 mg (ebben feltehetően a teafogyasztás is szerepet játszik).



A fakultatív fluorforrások köre egyre bővül. Ezek sorában leggyakoribbak a caries megelőzésére alkalmazott eljárások:

- az ivóvíz fluordúsítása,
- a háztartási só fluordúsítása,
- a tej fluordúsítása,
- üdítő italok fluordúsítása,
- fluoridot tartalmazó tabletták (0,25, ill. 1,0 mg),
- valamint fluoridos fogpaszták, szájvizek és rágógumik alkalmazása.

Széleskörű alkalmazásukat bizonyítja, hogy az USA-ban — 1970-es adatok szerint — már több mint tizenhét millió személy használt és fogyasztott fluorral dúsított vizet, az Egyesült Királyságban pedig mintegy három millió főt érintett a fluordúsítás.

Az ivóvíz fluorozás caries profilaxisban való alkalmazásával kapcsolatos statisztikai elemzésről és a klinikai vizsgálatok alapján leszűrhető kedvező tapasztalatokról legújabbán DIRKS számolt be [17]. Az első vizsgálatok a konyhasó fluordúsításával kapcsolatban az 50-es évek elején láttak napvilágot. Hazánkban TÓTH vizsgálatai [67, 69, 70] ismertek ezzel kapcsolatban. A sóbevitelben mutatkozó különbségeket — az ivóvízhez hasonlóan — természetesen nem szabad figyelmen kívül hagynunk. A tej fluorozása is igen kézenfekvőnek tűnik. A nem túl nagyszámú klinikai tapasztalat szerint kifejezett caries-reduktív hatás észlelhető a fluordúsítás ezen formájánál is, annak ellenére, hogy a fluorid a tejből rosszabbul szívódik fel és a fluorid a tejben nem teljesen ionizált formában van jelen. SCHMIDT klinikai és állatkísérletes eredményeket összefoglaló cikkében [41] részletesen elemzi a tejfluorozás előnyeit és hátrányait. Jól szervezett, állandó ellenőrző hálózat esetén egyértelműen kedvező, caries-reduktív hatás észlelhető a fluoridálás ezen formájánál. Az ivóvíz vagy a konyhasó fluorozás fő előnye abban van, hogy rendszeressé válik a fluoridbevitel anélkül, hogy az érintett lakosság személyes kollaborációjára volna szükség, még a fluoridot tartalmazó tabletták vagy egyéb fakultatív fluorkiegészítők esetén a pontos dozirozhatóság nyújtotta előny elveszhet, ha az egyén nem rendszeresen, folyamatosan, az előírásoknak megfelelően alkalmazza azokat. Az is igaz ugyanakkor, hogy a választás lehetőségének hiányában az ivóvíz vagy a só fluorozása esetén az individuális fogyasztásban és felhasználásban mutatkozó nagyfokú különbségek a túlzott bevitel veszélyét is potenciálisan magukban hordozzák. Számítások szerint azok a csecsemők, akiket mesterségesen táplálnak és a csecsemőtáp hígítása fluorozott ivóvízzel történik, mintegy ötvenszerte magasabb fluoridbevitelnek vannak kitéve az anyatejjel táplált csecsemők fluoridbeviteléhez képest, bár kedvezőtlen vagy káros mellékhatásokról még ilyen esetek kapcsán sem számoltak be.

A szervezetbe történő fluoridbevitel szempontjából említést érdemelnek a terápiában felhasználásra kerülő fluorvegyületek is (fluor-tartalmú kortikoszteroidok, narkotikumok, egyes antimaláriás és tumorelleses szerek). Miután ezekben a fluorid általában igen stabil kötésben van jelen, alkalmazásuk esetén az ion metabolikus hatásaival rendszerint nem kell számolnunk.

#### *A szervezetbe kerülő fluorid formái*

Biológiai hatásuk figyelembevételével a fluoridokat általában két csoportba szokás osztani. Ezek az alábbiak:



#### *anorganikus fluoridok*

- szolubilis ( $\text{NaF}$ ,  $\text{Na}_2\text{PO}_3\text{F}$ ,  $\text{H}_2\text{SiF}_6$ ,  $\text{HF}$ ,  $\text{Na}_2\text{SiF}_6$  stb.),
- inszolubilis ( $\text{CaF}_2$ , kriolit stb.),
- inert ( $\text{KBF}_4$  stb.);

#### *organikus fluoridok*

- fluoropolimerek,
- fluorokarbonok,
- fluorofoszfátok,
- fluoroacetátok,
- aminfluoridok.

Fluoridhatás szempontjából az anorganikus vegyületekből felszabaduló és felszívódó fluorid ionnak van elsősorban biológiai jelentősége. A szerves fluoridok csoportjában található fluoropolimerek kémiaiilag inerteek és főleg a csomagolóiparban és a sebészetben kerülnek felhasználásra, az aminfluoridok csoportjából kerülnek ki a legújabb cariesprofilaktikus szerek. A többi organikus származék azonban igen toxikus.

### *A fluoridok felszívódása*

Általánosan ismert, hogy a fluorid bélből történő felszívódása elsősorban a bevitt fluorszármazékok oldékonyságától függ, és a fluorid ionos formában jut a keringésbe. A tápanyagokból származó fluorid mintegy 80%-a abszorbeálódik.

#### *1. A felszívódás helye*

GABLER vizsgálatai [25] igazolták, hogy bizonyos mennyiségű fluorid már a szájnyálkahártyán keresztül felszívódik. A felszívódás döntően azonban a gyomorban és a bélben megy végbe. A gyomorból valamivel kevesebb szívódik fel, mint a bélből [56]. A vékonybélből történő fluoridabszorpció fő helye a jejunum [39]. A tápcsatornából történő felszívódás mellett a bőrön keresztül is felszívódhat fluorid (HF). Fluoriddal szennyezett levegő, illetve por inhalációja esetén a felszívódás helye a tüdő.

A szájnyálkahártyán keresztül történő fluoridabszorpció viszonylag lassú [25] a gyomor—bélrendszerből, illetve a tüdőből történő felszívódáshoz képest. A gyomor—bélrendszeren keresztüli rapid felszívódás mellett szól az is, hogy jól oldódó fluoridok bevitelét követően már röviddel kimutatható a vesén keresztül történő kiválasztás fokozódása.

#### *2. A felszívódás mechanizmusa*

A fluoridok felszívódása passzív folyamat. A fluorid ionok abszorpciója egyszerű diffúzió útján megy végbe a gyomor-, ill. a bélfalon keresztül. STOOKEY vizsgálatai [59] szerint nátriumcianid, illetve 2,4-dinitrofenol a fluoridabszorpciót nem befolyásolja. Hasonlóképpen a hőmérséklet 20—37 °C-ig történő változtatásának sincs hatása a bélből történő fluoriddiffúzióra.

#### *3. A felszívódást befolyásoló tényezők*

A fluoridok bélből történő felszívódása koncentrációfüggő, és a felszívódást befolyásolja annak a felületnek a nagysága is, amelyen keresztül az végbemegy. Számos olyan nyomelem van a vízben, illetve a táplálékban, amely a



fluorral komplexet képezhet (alumínium, vas III, titán), vagy alacsony pH mellett a gyomorban és a duodenumban is képződhetnek ilyen vegyületek. Ezen fluorkomplexek felszívódása pedig eltérhet az ionos formától. Az ivóvízben található közel harminc elem közül egyik sincs olyan mennyiségben jelen, hogy figyelemreméltó mennyiségű fluoridot megkössön. Ezzel a lehetőséggel elsősorban a kemény vizekben nagy koncentrációban előforduló magnézium és kalcium esetén kell számolnunk. Ilyenkor rosszabb hatásfokú a fluorid bélből történő felszívódása. Fluoriddal együtt adott, káliumsót ( $\text{CaCl}_2$ ) tartalmazó oldat csökkenti a fluorid retenciót a szervezetben, egyúttal fokozza a széklet útján történő fluoridürítést. A fluoridabszorpció csökkenésének oka ilyenkor valószínűleg az oldhatatlan kalciumfluorid képződése. A magnéziumról is ismert, hogy csökkenti patkányban a fluorid intesztinális abszorpcióját [58], és ugyancsak csökkenti a csont fluoridfelvételét, ha önmagában vagy kalciummal való kombinációban alkalmazzák [73]. Ebből következik, hogy olyan vidékeken, ahol a fluoridbevitel az optimálist meghaladja, a fluorotoxikózis tüneteinek létrejöttére az esély viszonylag kicsi, ha az ivóvíz kalcium- és magnéziumtartalma magas. ARMSTRONG a plazma fluoridszintje és a bélből történő fluorid-felszívódás közötti összefüggésre hívja fel a figyelmet [5]. Eredményeiből arra a következtetésre jut, hogy a plazma fluoridkoncentrációjának emelkedése csökkentheti a bélből történő felszívódást. Bizonyos körülmények ugyanakkor a fluorid-felszívódás fokozódására vezethetnek. Így például a magas zsírtartalmú diéta valószínűleg azáltal eredményez fokozott fluorid-felszívódást, hogy a zsírok gyomorürülést csökkentő hatása következtében hosszabb idő áll rendelkezésre a fluorid gyomorból történő felszívódására. STOOKEY a molibdénnek fluorid-felszívódást fokozó hatását észlelte idős patkányokon [56].

### *A fluoridok raktározása a szervezetben*

#### Raktározás a keményszövetekben

A fluoridok raktározása elsősorban a keményszövetekben történik. A szervezet összes fluoridtartalmának mintegy 96%-a található a csontokban. A csontokba deponálódott fluorid a csont kristályszerkezetébe épül. A fluorid-beépülés eredménye egy jóval stabilabb, az ásványi anyagok oldékonyságát és csontvesztést kiváltó hatásoknak fokozottan ellenálló csontstruktúra kialakulása. Kísérletes vizsgálatok adatai szerint fluorozott ivóvíz adagolását követően a csont „turn over”-e megváltozik. Az oszteoblasztok száma nő, az oszteoklasztok nagy része inaktív formában van jelen. A csontvolumen nő, mutatván, hogy a csonképződés felülmúlja a csontrezorpciót és a fluoridadagolás következtében stabilabbá válik a csont. A csontok fluorid-raktározó kapacitása a csontok vaszkularizációjától és növekedési aktivitásától is függ; több mint kétszeres mennyiségű fluorid épül be az aktívan növekvő helyekre. Ezért mérhető a csontok epifízisében általában magasabb fluoridkoncentráció. A csontok nagyfokú fluoridaffinitását mutatja, hogy ha patkányoknak négy héten keresztül fluoridot tartalmazó (50 ppm) ivóvizet adagolnak a humerus fluoridtartalma jelentősen fokozódik. A fluorid felhalmozódás több hónapig tartó fluoridbevitel esetén is megfigyelhető. A csontokba történő fluoridbeépülés döntően a vizelettel történő fluoridkiválasztás függvénye. Fluoridot tartalmazó (25, 100 ppm) ivóvizet tartósan fogyasztó, féloldali veséirtott pat-



kányoknál szignifikánsan nő a csontokba beépülő fluorid mennyisége [14]. Az ivóvíz és a humán csontok fluoridtartalma közötti összefüggést vizsgálva megállapítható, hogy minél nagyobb a bevitt fluorid mennyisége, annál nagyobb fokú a csontokba történő depozíció.

A csontokhoz hasonlóan a fogak zománcába is beépül a fluorid fluorapatit formájában. A fogak előtörését megelőző — ún. preeruptív — szakban a fluorid a zománc fejlődését, érését segíti elő. A fogak előtörését követően tovább folyik a fluorid beépülése a zománc felszíni rétegeibe, de ebben a periódusban a fluorid fő hatása a zománcban savhatásra bekövetkező demineralizációt követő remineralizációs folyamat serkentése. Ez és a fluorapatitot tartalmazó fogzománc csökkent savoldékonysága együttesen biztosítja, hogy a fogak a dentális cariesszel szemben ellenállóbbak legyenek. Ugyanazon fog különböző részein és a zománc különböző rétegeiben a fluorid koncentrációja jelentősen különbözhet. Az ún. foltos zománcban az átlagos fluoridkoncentráció jóval magasabb mint az ép fogzománcban.

## 2. A lágy szövetek fluoridtartalma

A lágy szövetek fluoridtartalmára vonatkozó vizsgálatokból arra lehet következtetni, hogy számottevő akkumuláció, illetve raktározás a lágy szövetekben nincs. Izotópos vizsgálatok ( $^{18}\text{F}$ ) szerint a fluoridkoncentrációja a lágy szövetekben a plazmáéhoz hasonló. KNAUS folyamatos fluorid infúzió során a lágy szövetek közül a tüdőben és a vesében talált a plazmáénál magasabb fluoridkoncentrációt [33]. A máj és a lép jóval kevesebb mennyiségű fluoridot tartalmazott az előbbi szervekhez viszonyítva. A lipidtartalmú szervekben (agy és zsírszövet) ugyanakkor a plazmáénál alacsonyabb fluoridkoncentráció volt mérhető az infúzió idején. HAVIVI szerint [28] kalciumhiányos diétán tartott patkányoknál fokozódik a fluoridfelszívódás a bélből és a csontok, valamint a plazma fluorid-koncentrációjának emelkedése mellett a máj és a vese fluoridkoncentrációja is növekszik. Emberen végzett megfigyelések alapján megállapítható, hogy a lágy szövetekben a fluorid nem tárolódik nagyobb mennyiségben akkor sem, ha a fluoridbevitel időtartamát megnöveljük.

Mindezek alapján leszögezhetjük, jöllehet bizonyos esetekben a lágy szövetek is képesek fluorid tárolásra, a szervezet számára a tényleges fluorid „pool”-t döntően mégis a csontok jelentik.

## *A fluoridok kiválasztása*

### I. A vesén keresztül történő kiválasztás

A fluoridelimináció fő útja a vesén keresztül történő kiválasztás [54, 74]. A vizelettel kiválasztásra kerülő fluorid mérése igen jó indikátora a fluorid-felvételnek, de csak abban az esetben, ha a bevitt mennyiség az optimálisnak megfelelő vagy ahhoz közeli érték. Ha az ivóvíz fluoridtartalma 1 ppm, a vizelet fluoridkoncentrációja 0,5—1,5 ppm között ingadozik [35]. Igen alacsony fluoridtartalmú ivóvíz fogyasztásakor a vizelet fluoridkoncentrációja csaknem húszszorosa az ivóvízének, ezért ilyen esetben a vizelet fluoridkoncentrációjából a bevitelre nem lehet következtetni. TÓTH fluoridban szegény vizet fogyasztó személyeknél a vizelet fluoridtartalmát 0,2—0,28 mg/l-nek találta [64]. SPENCER [54] és TÓTH [65] megfigyelése szerint a bevitt fluoridnak mintegy 50—55%-a kerül a vizelettel kiválasztásra. A fluorid már röviddel a bevitel követően megjelenik a vizeletben, és 5 mg fluor adása után nyolc órával a vize-



let fluoridkoncentrációja már a kontroll szinten van. Nátriumfluoridot tartalmazó vitamin tabletták szedését követően az első órában mérhető a legnagyobb fokú kiválasztás gyermekeknél. A fluoridbevitel növelésével egyidejűleg a vizelettel való ürítés is fokozódik. Patkányoknál a vizelet mennyiségének növekedésével arányos fluoridkiválasztás fokozódás tapasztalható, ugyanakkor vízmegvonás nem csökkenti a vese fluorid kiválasztását. A vese fluoridkoncentrációja  $^{18}\text{F}$ -al mérve magasabb mint a véré. A fluorid koncentrációdik a vizeletben. SHANNON [44] 6—9 éves gyermekeknél nem tapasztalt különbséget a vizelet fluoridtartalmában a nem vagy életkor tekintetében. KUO különböző életkorú személyek fluoridkiválasztását összehasonlítva megállapította [35], hogy 50—60 éves korban választódik ki a legnagyobb mennyiségben a fluorid a vizelettel, és a férfiak fluoridkiválasztása magasabb mint a nőké, amely az előbbieket valószínűleg magasabb fluoridbevitelével magyarázható. Az életkor előrehaladásával a fluorid vizelettel történő kiválasztása általában fokozódik [21]. Különböző fluorvegyületek bevitelét követően nem mutatható ki különbség a vizelettel ürített fluorid mennyiségében [3]. SHANNON ugyanakkor  $\text{CaF}_2$  adása esetén csökkent fluoridexcretióról számolt be a  $\text{NaF}$ -al, illetve  $\text{Na}_2\text{PO}_3\text{F}$ -al kezelt csoportokhoz viszonyítva [43]. A fluorid renális clearance-e magas (20—40 ml/min). Vesekárosult egyének fluoridkiválasztása körülbelül 1/3-a a hasonló korú egészséges egyénekének. A vese képes a fluorid renális reabszorpciójára, s ez a folyamat pH függő. A reabszorpció mértéke a pH-val fordított összefüggést mutat [76]. A filtrált fluoridnak 65—85%-a kerül reabszorpcióra általában, és ez az érték az egyén fluoridfelvételének is függvénye [21]. WHITFORD szerint [74] a fluorid renális reabszorpcióját alapvetően meghatározó tényező a vizelet pH-ja. A pH változtatásával a filtrált fluorid 30—95%-a kerülhet reabszorpcióra.

## 2. A nyálba történő kiválasztás

A nyálban a fluorid csak kis mennyiségben van jelen, mégis a nyál fluorid-tartalmára vonatkozó vizsgálatok igen kiterjedtek, elsősorban a nyál-fluorid cariológiai szempontból fontos hatásaira való tekintettel. Miután a fogzománcban a fluorid akkumulálódik, a fogak dentális cariessel szembeni védelmében a nyálból a fogakba történő fluoridbeépülés klinikai szempontból komoly jelentőségű.

A gl. parotis által elválasztott nyálban a fluorid koncentrációja általában 0,007—0,030 ppm között változik. A gl. submandibularisból és a gl. parotisból szimultán gyűjtött nyál fluoridkoncentrációjában nem mutatható ki eltérés. Nyugalmi nyálban szignifikánsan magasabb fluoridkoncentráció mérhető, mint stimulációt követően [42]. Érdekes, hogy a kevert nyál fluoridkoncentrációja kifejezetten magasabb mint a nyálmirigyek kivezetőcsövéből izoláltan gyűjtött nyálmintáké. Ennek valószínű magyarázata az, hogy az előbbi esetben az ún. „dentális plakk”-ból (amelynek fluoridkoncentrációja igen magas lehet) és a különböző sejttörmelékekből származó fluorid is a nyálba kerül. Centrifugálást követően a fluoridkoncentráció csökken a nyálban. Ingernyálban a fluoridkoncentráció független a szekréció sebességétől [27]. A nyál fluoridkoncentrációja általában a plazmakoncentrációval megegyező [42] vagy annál valamivel alacsonyabb. A nyálba történő fluoridkiválasztás pontos mechanizmusa még nem teljesen tisztázott. Egyes adatok arra mutatnak, hogy az ion passzív diffúzióval jut át a mirigysejten és a fluorid koncentrációja gyakorlatilag nem változik a ductus rendszeren történő keresztülhaladás során sem [43].



Fluorid bevitelét követően a bevitt mennyiség körülbelül 1%-a mutatható ki a nyálban. A bevittet követően a fluoridkoncentráció maximuma 30 percen belül kialakul és a szérummal parallel változik. Ha egyszeri fluorbevitelről van szó, az eredeti koncentráció 2—6 órán belül tér vissza, és a csökkenés mértéke a fluor dózisének függvénye. Fluoridkezelést követően a gl. submandibularis által szimpatikus vagy paraszimpatikus ingerlésre elválasztott nyál fluoridkoncentrációja az ingerlés típusától függően változhat [13]. A nyálban a fluorid két formában fordul elő: egyik a szabad, ionos forma, a másik pedig a baktériumokhoz, hámsejtekhez vagy különböző anorganikus komponensekhez neutrális pH-nál kötődő forma. Különböző fluorvegyületek nyálba történő kiválasztását vizsgálva megállapítható, hogy NaF és  $\text{Na}_2\text{PO}_3\text{F}$  esetében szignifikánsan nő a nyál fluoridkoncentrációja,  $\text{CaF}_2$  azonban nem befolyásolja a nyál aktuális fluoridszintjét. NaF-ot vagy  $\text{Na}_2\text{PO}_3\text{F}$ -ot alumíniummal együtt adagolva — a kialakuló alumínium-fluor komplex csökkent intestinális abszorpciója következtében — kisebb mértékű a fluoridkoncentráció emelkedés a nyálban mint alumínium nélkül adagolva azokat. SHANNON [43] szerint a fluoridvegyületek oldékonysága a kritikus faktor a nyál fluoridszintjének szabályozásában, de az egyes fluorvegyületek kémiai jellemzői, bizonyos komplexképző ionok jelenléte és a fluoridból történő felszívódásánál mutató különbségek is fontos szerepet játszanak a nyál fluoridkoncentrációjának alakulásában.

### 3. A kiválasztás egyéb útjai

A bevitt fluorid körülbelül 10%-a a széklettel kerül kiválasztásra [42]. Ennek egy részét a felszívódásra nem került fluorid képezi, ugyanakkor aktív fluorid transzport is végbemegy a szekréció irányának megfelelően, ilymódon a széklettel ürített fluorid másik részét az egyszerű már felszívódott, majd újra a bélcsatornába transzportált fluorid adja. Az epével is kiválasztódik egy kismennyiségű fluorid. Patkányon végzett kísérletek arra mutatnak, hogy az epében a fluorid nem koncentrálódik be [39]. Mindezek mellett a fluorid szinte kivétel nélkül, valamennyi testnedvben kimutatható. Így kismennyiségben ugyan, de a verejtékben, a könnyben és az anyatejben is előfordul.

## *A fluor megoszlása a szervezetben*

A szervezetbe bevitt és felszívódott fluorid először a keringésbe jut, majd onnan a különböző szövetekbe és raktározó helyekre. A bevitt mennyiség bizonyos hányada ugyanakkor a vizelettel, de más módon is kiválasztódik. A kemény-, illetve lágyzövetek fluoridtartalmára vonatkozó vizsgálatok eredményeit korábban már részleteztük.

### 1. Intracelluláris megoszlás

Abból a tapasztalatból kiindulva, hogy a lágyzövetek fluoridtartalma a vér fluoridkoncentrációjával parallel változik, feltételezhető, hogy a fluoridion számára a sejtek membránja éppúgy átjárható, mint más halogénionok számára. A sejtek membránján keresztül történő penetráció gyors. Az irodalomban igen szórványosan találhatók adatok a sejten belüli fluorideloszlásra vonatkozóan.  $^{18}\text{F}$ -al végzett vizsgálatok szerint a májsejtek *in vitro* körülmények között igen gyorsan felveszik a fluoridot, a sejtekből való felszabadulás exponenciális. Fluorizotóp jelenlétében inkubálva a májszeleteket — az inku-



bálás időtartamától és a mosási eljárástól függetlenül — a radioaktivitásnak legalább a fele a sejtek citoplazmájában mérhető, ugyanakkor az is megállapítható, hogy a mitokondriumok — a többi sejtalkotóhoz viszonyítva — bizonyos preferenciát mutatnak fluoriddal szemben. Nátriumfluoriddal kezelt rágszálók-nál a bélnyálkahártya-, valamint a májsejtek mitokondriumainak duzzadása és bennük elektrondenz anyag felhalmozódása észlelhető.

A szövetekben a fluorid egy része feltételezhetően kötött formában van jelen. A fluoridbevitel növelésekor a fluoridkötő komponensek 2—4 nap alatt telítődnek. Ezek kémiai természete még nem tisztázott. Az azonban bizonyosnak látszik, hogy a kötött formából a fluorid valamilyen úton képes jelszabadulni, például abban az esetben, ha a fluorid felvétele csökken.

## 2. A fluorid megoszlása a vérben

A keringő vérben a fluorid nem oszlik meg egyenletesen a vörösvérsejtek és a plazma között. A keringésben kimutatható összes fluorid mintegy 3/4-e található a plazmában. Humán szérumban a fluorid két formában van jelen: az egyik részt az ionizált, a másikat az ún. kötött fluorid képezi. A szérum fluorid kb. 80—90%-a kötött fluorid, míg a többi ionos. Humán szérumban az organikus fluorid valószínűleg albuminhoz kötődik és viszonylag állandó a koncentrációja (1,6  $\mu\text{M}$ ), más fajok esetén ugyanakkor ez a frakció csak igen kis mennyiséget képvisel (0,1  $\mu\text{M}$ ). Egyes szerzők viszont — gélfiltrációt alkalmazva — nem találtak fehérjéhez kötött fluoridot a plazmában [30], bár felvetik annak lehetőségét, hogy a reverzibilis fehérje-fluorid komplex az oszlopon történő elúció során disszociálhat és így ez a negatív eredményt magyarázhatja. A kötött fluoridra és a fluoridot kötő anyagra vonatkozó ellentmondó adatok valószínűleg az alkalmazott analitikai módszerek különbözőségével magyarázhatók.

## 3. A szérum fluoridszintjét befolyásoló tényezők és a fluoridszint szabályozása

Fiatalférfiaknál a szérum fluoridkoncentrációja konstans érték (0,906  $\mu\text{M}$ ), de 45 éves kor felett a szérum fluoridkoncentráció nő és lineáris korrelációt mutat a korrallal [29]. Nők esetében ugyanakkor lineáris regresszió tapasztalható a szérum fluorid koncentrációja és az életkor vonatkozásában [29]. Magas fluoridtartalmú ivóvíz fogyasztásakor a plazma fluoridkoncentrációja növekszik; 0,1 ppm fluoridot tartalmazó víz fogyasztásakor a plazma fluoridkoncentrációja 0,41  $\mu\text{M}$ , míg 5,6 ppm fluoridtartalmú víz fogyasztása esetén ez az érték 4,3  $\mu\text{M}$ , bár ilyen magas fluoridbevitelkor igen figyelemreméltó ingadozás észlelhető a plazma napi fluoridszintjében [21]. Éhezést követően különböző időpontokban mérve a szérum ionizált fluoridtartalmát, nem észlelhető különbség egyik nem esetében sem, és a szérum-, illetve plazmaértékek sem térnek el jelentősen egymástól [29]. Vesekárosodás esetén viszont fokozódik a szérum fluoridszintje [29], mások ezt nem erősítették meg [35].

Állatkísérletek alapján kimutatható, hogy diétával történő fluorid kiegészítéskor kifejezett diurnális változás figyelhető meg a plazma fluoridkoncentrációjában. A plazma fluoridkoncentrációja és a táplálékfelvétel között negatív korreláció áll fenn. Ha a diétás fluoridszint elég magas ahhoz, hogy a táplálékfelvétel mértékét redukálja, a plazma fluoridszintje nő, míg fluoridot alacsony koncentrációban tartalmazó diéta esetén ez a változás nem következik be. Az a kérdés, hogy milyen mechanizmus útján szabályozza a szérum fluoridszintje a táplálékfelvételt, máig sem tisztázott.



A 60-as években jutottak arra a felismerésre, hogy a plazma fluoridkoncentrációja meglehetősen állandó, jelentős fluoridbevitel után is csak átmenetileg emelkedik, illetve éhezés után sem csökken számottevően. SINGER vizsgálatai [51] alapján vetődött fel annak lehetősége, hogy a plazma fluoridszintjének állandóságát egy több támadásponttal rendelkező szabályozó rendszer biztosítja. Bár a fluorid homeosztázis különbözhet a fajoktól függően, alapvetően mégis valamennyi esetében a plazma fluoridszintjét három tényező hatásának eredője határozza meg:

- a keményszövetekbe történő fluorid beépülés, illetve az onnan történő mobilizáció;
- a vizelettel történő fluoridkiválasztás;
- a fluoridbevitel, illetve a gyomor-béltraktusból történő felszívódás mértéke.

Fluorid bevitelét követően 20—40 perccel alakul ki a csúcskoncentráció a plazmában és ez — a kísérleti állatok életkorától függően — 4, ill. 8 óra múlva tér vissza a kiindulási szintre. A fiatalabb állatok gyorsabb reakciója valószínűleg azzal magyarázható, hogy esetükben a plazmából a csontok irányába történő fluorid kiáramlás gyorsabb és a fluorid nagyobb mennyiségben képes beépülni az aktívan növekvő csontokba. A csontok által biztosított fluorid-poolnak a plazma fluoridszintjének állandóságában betöltött szerepét támasztják alá SINGER vizsgálatai [51]. Patkányoknál egyhetes éhezést követően a humerus fluoridtartalmának kifejezett csökkenését észlelte anélkül, hogy a szérum fluoridszintje csökkent volna.

A vese szerepét a fluoridkiválasztásban a korábbiakban már részleteztük. Ugyancsak utaltunk arra, hogy a plazma fluoridszintjének fokozódása a bélből történő fluoridfelszívódást gátolhatja, és, hogy a táplálékfelvétel valamint a szérum fluoridszint között is bizonyos kölcsönhatás áll fenn. Az elmondottakat röviden összegezve megállapítható, hogy a csontok a plazmából történő fluoridfelvételt növelésével, illetve a mobilizáció fokozásával, a vesék pedig a fluoridkiválasztás fokozásával, illetve csökkentésével képesek biztosítani a plazma fluoridszintjének állandóságát és ez a kölcsönhatás még kiegészül a szérum fluoridszintjének a bélből történő fluoridfelszívódásra gyakorolt hatásával. Ezen homeosztatisz szabályozás érvényesülését bizonyítja, hogy a normális fluorid szükséglet 50-szeresét adagolva sem magasabb a szérum fluoridkoncentrációja, mint az eredeti 4—5-szöröse.

A fluor-homeosztázis speciális formája érvényesül terhesség során. A jelenlegi vizsgálatok arra utalnak, hogy fluoriddal szemben a placenta parciális barrierként viselkedik [16], és ez a sajátossága a magzat fluoridterheléssel szembeni védelmét biztosítja. A placentáris fluorid-transzfer módjára vonatkozóan az a feltételezés, hogy olyan esetben, amikor a fluoridfelvétel kicsi — azaz a placenta fluoridtartalma is alacsony — a magzati vér irányába történő fluorid-transzfer nem vagy alig gátolt, magas fluoridbevitel esetén viszont a placenta képes a transzfer csökkentésére.

### Fluorid és az anyagcsere

A fluoridnak az anyagcserét és a metabolikus folyamatokban szerepet játszó enzimek aktivitását befolyásoló szerepét igen kiterjedten vizsgálják, de az ellentmondó és több vonatkozásban hiányos kísérleti adatok következtében



a fluorid okozta specifikus és enzimatisus változások kérdése még ma is nyitott.

Fluorid bevitele után a kísérleti állatok növekedési üteme mérséklődik és a táplálkozás módjában is változások tapasztalhatók; növekszik az étkezésre fordított idő és az állatok táplálkozása majszoló jelleget ölt [46]. WEBER [72] egereken végzett vizsgálatai szerint azonban csak igen magas fluoridtartalmú (1500—2000 ppm) diéta képes növekedési redukciónak létrehozni.

### *Fluorid és a szénhidrát-anyagcsere*

A fluoridnak a szénhidrát-anyagcsereére gyakorolt hatását viszonylag sokan vizsgálták [45, 46, 48]. ZEBROWSKI [78] fluordieta (450 ppm) hatására patkányoknál nem észlelt különbséget sem a máj glikogén szintjében, sem a vércukor-szintben a kontrollhoz képest. Ugyanakkor a fluoriddal etetett állatok májszeleteiben az endogén glikogén degradáció csökkenését tapasztalta. *In vitro* körülmények között, májszeleteken a glukóz májglikogénbe történő beépülését jelzett glukózzal vizsgálva megállapította, hogy az relatíve lassúbb a fluoriddal kezelt csoportban. A glikogén metabolizmusának fluorid kezelés következtében kialakuló zavara valószínűleg a fluorid indirekt hatásával (táplálék-felvételre gyakorolt hatás, bélből történő felszívódási folyamatok módosítása stb.) magyarázhatók és nem a glikogén-anyagcsereiben szerepet játszó egy vagy több enzim fluorid okozta direkt gátlásával. SHEARER [49] 25 mg/kg dózisban, intraperitoneálisan adagolt fluorid hatására a fluorid bevitelét követően 15 perccel patkányok májában a fluoridkoncentráció növekedéséről számolt be. Ilyen körülmények között a máj glukóz- és ATP koncentrációjának változatlansága mellett a glikolitikus intermedierek és néhány citromsavciklus metabolitnak a mennyiségében kifejezett eltéréseket tapasztalt; a foszfoenolpiroszólólsav előtti intermedierek mennyisége növekedett, ugyanakkor csökkent a piroszólólsav utáni metabolitoké a fluoriddal kezelt csoportban. A fluoridbevitel a vese intermedierek anyagcserejét nem befolyásolta. DOST [18] folyamatos nátriumfluorid infúzió során a glikogéndepozíció csökkenéséről számolt be, ami feltételezése szerint elsődlegesen a glukóz foszforiláció zavarával függhet össze. A foszforiláció zavara következtében a glukóz sejtbe jutása gátolt lehet, s ennek lehetősége a diabétesszel való kapcsolatot veti fel. Humán vizsgálatok eredményei is alátámasztják ezt a feltételezést, mivel kimutatták, hogy fluor-expozíciónak tartósan kitett személyeknél nő a szérum foszfohexózizomeráz aktivitása és gyakoribb a vércukorgörbe kóros lefutása a kontroll csoporthoz képest.

A fluorid anticariogen hatásának egyik összetevője a cariogen baktériumok savtermelésének csökkentése, amelyet a fluoridnak a sejtek anyagcserejére gyakorolt hatása (enoláz gátlás), vagy a szubsztrát (glukóz) felvételét csökkentő hatása magyaráz. Számos mikroorganizmus képes szénhidrátot raktározni és úgyszintén képes az abból történő savprodukciónak. Az exogen glukózból történő szénhidrát-raktározás és a savtermelés is csökken abban az esetben, ha a fluoridkoncentráció növekszik és a pH csökken. A glukózfelvétel fluoriddal történő gátlásának két lehetséges magyarázata van:

- a fluorid gátolja a sejtek membránján keresztül történő glukóz transzportot (membrán ATP-áz);
- vagy a hexokináz aktivitásának gátlása révén akadályozza a glukóz foszforilációját.



Újabb vizsgálatok [40] megerősítik, hogy a bakteriális glikolízis fluoriddal történő gátlásának első lépése a glukózfelvétel gátlása.

### *Fluorid és a fehérje-anyagcsere*

A fluoridnak a fehérje-anyagcsereére gyakorolt hatásairól keveset tudunk. Fluoridot toxikus mennyiségben tartalmazó tápot fogyasztó egereknél nem sikerült a fehérjeemésztésben, sőt az energiaforgalomban sem eltérést észlelni [72]. Nagy mennyiségű és tartós fluoridbevitelkor a szérum fehérjék mennyisége csökken. *In vitro* körülmények között a fluorid gátolja a fehérjeszintézist, a riboszómákon új peptidok felépítését. Nagy dózisban adagolva patkányok májában degeneratív hisztológiai elváltozások észlelhetők, melyek a májsejtek fehérjeszintézisének gátlása következtében alakulnak ki. SHEARER [47] 450 ppm fluoridot tartalmazó diéta adagolásakor a legtöbb aminosav plazmaszintjének csökkenését tapasztalta, de a kezelés második hetében az aminosav „pattern”-ben észlelt változások normalizálódtak. Eredményei szerint a korábbi eltérések inkább a fluorid okozta táplálékfelvétel mennyiségi változásának következményeként, mintsem direkt fluorid hatásnak foghatók fel, bár az sem kizárható, hogy a táplálékfelvétel csökkenését valamely anyagcsereút megváltozása eredményezi.

### *Fluorid és a zsíryanagcsere*

WOLINSKY [77] 200 ppm fluoridot tartalmazó ivóvizet adagolva két hétig patkányoknak, nem észlelte a fluorid hatását a máj összlipidtartalmára. Egereknél 50 ppm fluoridot tartalmazó ivóvíz fogyasztása esetén ugyanakkor a szérum koleszterin és koleszterin-észter szintjének csökkenése tapasztalható [36]. SIEVERT [50] patkányoknál a vese lipid- és nitrogéntartalmának csökkenéséről számolt be 0,1% nátriumfluorid tartalmú diéta esetén. A fluoriddal kezelt állatoknál a széklet útján történő lipid és nitrogén ürítés fokozódott. A széklet magasabb zsírtartalma a lipáz aktivitás részleges gátlásával hozható összefüggésbe. Más szerzők is feltételezik, hogy a fluorid nagy dózisban adagolva a zsírsav-metabolizmust gátolja [78]. BATENBURG [7] májmitokondriumok zsírsavoxidációjának fluoriddal történő gátlását közölte és ezt a mitokondrium-mátrixban való pirofoszfát felhalmozódással hozza összefüggésbe. Feltételezik azt is, hogy a fluoridnak szerepe lehet az arterioszklerózis létrejöttében is.

### *A fluorid enzimekre gyakorolt hatásai*

#### *1. In vivo körülmények között érvényesülő hatások*

Fluoridtartalmú ivóvíz fogyasztásakor a szérum enzimek aktivitása patkányban, nyúlban és emberben is csak igen kis mértékben változik [22]. FERGUSON [23] a szérum-, máj-, a vese- és a bél savanyú foszfatáz, GOT, GPT és LAP aktivitását változatlanul találta 10 ppm fluoridot tartalmazó ivóvizet fogyasztó patkányoknál, ugyanakkor a szérum alkalikus foszfatáz aktivitásának a csökkenését tapasztalta. Nátriumfluorid-kezelés a máj piroszőlősavdehidrogenáz aktivitását is csökkenti [3]. Perfundált májjal végzett patkánykísérletek adatai szerint a citrát metabolizmusában szereplő enzimek nem érzékenyek a fluoriddal történő gátlásra, jóllehet a magas fluoridbevitelnek ki-



tett állatok májában és vérében a citrát-koncentráció emelkedik. A citráttartalom növekedése egy specifikus, de még nem tisztázott fluoridhatás következménye. Fluorid toxikózisban a plazma és a vörösvérsejtek savanyú foszfátáz aktivitása szignifikánsan csökken, ugyanakkor a plazma alkalikus foszfátáz aktivitása nem változik. Ilyen esetben ugyancsak megfigyelhető a  $Mg^{2+}$  aktiválta ATP-áz növekedésével egyidejűleg a  $Na^+—K^+$  aktivált ATP-áz csökkenése. FERGUSON [22] nyúlserum GPT, ICDH, LAP, alkalikus foszfátáz és aldoláz aktivitásában nem észlelt változást fluorozott ivóvíz adagolását követően, míg a GOT, MDH és LDH aktivitása ilyen esetben csökkent. Miután a vér fluoridkoncentrációja túl alacsony ahhoz, hogy az enzimek aktivitását jelentősen befolyásolja, az enzimatikuss eltérések magyarázatát abban látja, hogy fluorid hatására az enzim-produkció mértéke változik meg, vagy az enzim-termelő szerv sejtjeinek enzimvesztésére hat valamilyen módon a fluorid. A fenti eredmények alapján vitatja, hogy 1 ppm fluoridot fogyasztó személyeknél figyelemreméltó enzimekre való fluoridhatással kellene számolnunk. Bizonyos szöveti enzim aktivitások változásának hátterében ugyancsak nem direkt, a szöveti enzimszintézisre kifejtett fluorid hatásról van szó, hanem a fluoridnak a táplálékfelvétel mennyiségére és módjára gyakorolt hatásáról [45]. Ezzel a mechanizmussal magyarázható valószínűleg a glukóz-6-foszfát dehidrogenáz, illetve a piruvátkináz [45] aktivitásának a csökkenése is fluoridot fogyasztó állatoknál. BOROS [12] fluorozott ivóvíz adagolása után nem talált változást patkányok gl. parotisanak amiláz aktivitásában, de ugyanakkor a szénsavanhidráz aktivitás fokozódásáról számolt be 25 ppm fluoridot tartalmazó ivóvizet fogyasztó állatoknál. Krónikus fluortoxikózisban patkányok plazmájának fluoridkoncentrációja 0,1—0,15 mM és ez a koncentráció általában jóval kisebb, mint ami a fluoridra érzékeny enzimek gátlásához szükséges [45]. Ez a megállapítás igaz a szöveti fluoridkoncentrációk vonatkozásában is. WARBURG mutatta ki [71], hogy a fluorid 0,5 mM koncentrációban *in vitro* gátolni képes az enolázt. SHEARER [45] 2 mg fluorid intraperitoneális adását követően a májban 0,4 mM-nak találta a fluoridkoncentrációt, így az általa *in vivo* körülmények között tapasztalt enoláz gátlásához feltételezése szerint ugyanolyan koncentrációban volt szükséges a fluorid, mint az az *in vitro* gátláshoz kívánatos.

A fluoridról jól ismert, hogy *in vitro* körülmények között erőteljesen aktíválja az adenilcikláz. 1 ppm fluoridot tartalmazó ivóvizet fogyasztó patkányoknál a vizeletbe történő cAMP kiválasztás fokozódásáról és a máj-, szív- és a gl. parotis cAMP koncentrációjának a növekedéséről számoltak be újabban [4].

Az előbbieken vázolt eredmények alapján ma még nem tekinthetjük lezártnak és tisztázottnak a fluorid *in vivo* hatásainak kérdését. Nyilvánvaló, hogy még nagyon sok vizsgálat szükséges ahhoz, hogy egyértelműen állást foglalhassunk a fluoridnak az anyagcsere-folyamatokban szerepet játszó enzimekre gyakorolt *in vivo* hatásaival kapcsolatban.

## 2. *In vitro* körülmények között érvényesülő hatások

Az egyes enzimek fluoriddal történő gátlására vonatkozó irodalmat MATHEWS [37] dolgozta fel részletesen. A fluorid hatásmechanizmusa más és más, részletezésük nem áll módunkban. Lényeges viszont kiemelnünk, hogy a testnedvek normális fluoridkoncentrációjához képest általában többszörte magasabb fluorid-koncentrációk szükségesek az *in vitro* gátlás kiváltásához (bár



korábban ellenpéldát is hoztunk). DYBING [20] vizsgálatai szerint *in vitro* esetben a kolinészteráz 50%-os gátlásához 0,01 M-os nátriumfluorid-koncentráció szükséges. Ugyanilyen koncentrációban alkalmazva a humán nyál amiláz aktivitására ugyanakkor nincs hatása. Az adenilcikláz aktiválásához szükséges fluoridkoncentráció  $10^{-3}$ — $10^{-2}$  M. Ismert, hogy a fluorid ion mellett hormonok, katekolaminok is aktiválják ezen enzimet. Bár az adenilcikláz aktiválás pontos mechanizmusa részleteiben még nem tisztázott, megállapítható, hogy a fluorid más módon hat, mint a hormonok, és az enzim hormon hatására bekövetkező aktiválásához jóval kisebb hormonkoncentráció szükséges ( $10^{-9}$ — $10^{-6}$  M), mint a fluoriddal történő stimuláláshoz. Kalciummal stabilizált membránban az adenilcikláz nem aktiválható fluoriddal [19].

### *Fluorid és az ásványi anyagcsere*

#### 1. Fluorid és a kalcium

Kalciumnak a fluoridfelszívódásra gyakorolt hatását részben, már érintettük (33. o.). HAVIVI [28] diétás kísérletei is megerősítik, hogy kalciumban gazdag diéta esetén kevesebb fluorid szívódik fel és kevesebb is retineálódik a szervezetben. Kalcium hiányos diéta adásakor a fluoridabszorpció fokozódik és ez együtt jár a plazma-, a máj-, a vese- és a csontok fluoridkoncentrációjának az emelkedésével. Humán vizsgálatok eredményei szerint az átlagosnál magasabb kalciumfelvétel csak igen kis mértékben befolyásolja a fluorid egyensúlyt.

#### 2. Fluorid és a magnézium

A fluorid—magnézium kölcsönhatást vizsgálva megállapítható, hogy magas fluoridbevitelnek nincs hatása a magnézium kiválasztásra és nem befolyásolja a magnézium egyensúlyt sem. Ha vizsgáljuk a magnézium fluorid-metabolizmusra kifejtett hatását azt látjuk, hogy az átlagosnál magasabb magnéziumbevitel — jóllehet az eredeti 2—3-szorosára fokozza a széklet útján történő fluoridkiválasztást — a vizelettel történő fluoridkiválasztást nem befolyásolja, vagy csak kis mértékben csökkenti, ezért megállapíthatjuk, hogy a magnézium is csak csekély mértékben hat a fluoridegyensúlyra. Magnézium a bélből történő fluorid felszívódásra — a kalciumhoz hasonlóan — a fluoridabszorpció csökkentése révén hat [58]. Ugyancsak csökkenti a csontok fluoridfelvételét, ha önállóan vagy kalciummal kombinálva adagolják [73]. Ha fluoridban szegény diéta adagolását követően a diéta fluoridtartalmát megemelik, nő a csontok magnéziumtartalma. A fluorid protektív hatású a magnéziumdeficiens állapotokhoz társuló lágyszöveti calcinosisokkal szemben és ilyenkor szignifikánsan csökkenti a csontokból történő kalcium-mobilizációt.

#### 3. Fluorid és a foszfát

A fluorid fiziológias körülmények között a szérum foszfátszintjét nem befolyásolja. Egyes szerzők szerint foszfát fokozhatja a fluoridabszorpciót azért, hogy a kalcium fluoridra kifejtett hatását ellensúlyozza [9]. A fluorid metabolizmusára azonban az átlagosnál magasabb foszfátbevitel nem gyakorol számottevő hatást. Fluortoxikózisban a csontokban és az izmokban fluorid hatására stimulált foszfát „turn over” eredményeként a foszfátürítés fokozódása tapasztalható.



#### 4. Fluorid és az egyéb elemek

Újabban igen népszerűek azok a vizsgálatok, amelyek a fluoridnak a — különösen a fog keményszöveteinek metabolizmusában fontos szerepet játszó — nyomelemekkel való kölcsönhatását kívánják tisztázni. Ismert, hogy fluoridnak molibdénnel való együttes adása sokkal hatékonyabban csökkenti a dentális cariest, mint a fluorid önmagában [57]. A rubídium cariostaticus hatása patkányokon végzett kísérletek alapján ugyancsak feltételezhető. Fluoriddal való kombinációban azonban a két anticariogen anyag caries redukív hatásában nem tapasztalható additív hatás. A fluorid ún. posteruptív cariostaticus hatását a preeruptív szakban alkalmazott alumínium kezelés fokozza. Korábban feltételezték, hogy a szelén toxikus hatásait a fluorid súlyosbítja. HADJIMARKOS [26] szerint fluorid nem növeli a szelén retencióját és ugyancsak nem befolyásolja a csontokba, illetve a fogakba történő fluorid-depozíciót sem. A magas fluoridbevitel következményeként létrejött foltos zománc kialakulását és súlyosságát növeli, ha az ivóvíz stronciumtartalma magas.

### *Fluorid és az endokrin mirigyek kapcsolata*

#### 1. Fluorid és a pajzsmirigy

A korábbi klinikai és biológiai megfigyelések alapján sokáig az a téves elképzelés tartotta magát a fluorid pajzsmirigy-hatásaival kapcsolatban, hogy a fluorid hyperthyreosisban a pajzsmirigyfunkciót kedvezően befolyásolja, s ezért különböző formában antitireoid szerként alkalmazták is. A fluor—jód antagonizmus kérdése azonban a biokémiai analízis, valamint a nyomelemkutatás fejlődésével ma már teljes mértékben revízióra került. Azok a leglényesebb megállapítások, amelyek alapján a fluoridnak a pajzsmirigyre gyakorolt specifikus hatása kizárható, az alábbiak:

- a pajzsmirigy nem akkumulálja a fluoridot;
- a fluorid nem befolyásolja a pajzsmirigy jódfelvételét;
- olyan vidékeken, ahol az ivóvíz fluoridtartalma — természetes vagy mesterséges oknál fogva — az átlagosnál magasabb, a pajzsmirigyben nem mutatható ki gyakoribb patológiás eltérés;
- a fluorid kezelés nem gátolja az endémiás golyva megelőzésére alkalmazott jód kedvező hatását;
- a fluoridnak nincs hatása a tiroxin szintézisre.

Az endémiás golyva és az endémiás fluorózis két különböző, jól definiálható megbetegedés. Olaszországi szűrővizsgálatok is megerősítik, hogy endémiás fluorózis körzetében a golyva előfordulása nem gyakoribb, mint más területeken; az ilyen vidékeken tapasztalt 95%-os euthyreosis arra utal, hogy a fluorid nem játszik szerepet a pajzsmirigy működésében, illetve nem segíti elő az endémiás golyva kialakulását az átlagosnál jóval magasabb fluoridbevitelnek kitett személyeknél sem.

#### 2. Fluorid és a mellékpajzsmirigy

A fluorid és a mellékpajzsmirigy funkció összefüggésére BERNSTEIN [8] hívta fel a figyelmet, aki mellékpajzsmirigy hiperpláziáról számolt be magas fluorid-bevitelt követően. Meg kell jegyeznünk, hogy a fluoridbevitelt mellékpajzsmirigyekre kifejtett hatására vonatkozó adatok igen ellentmondóak [48]. A hosszú csontok mikroradiográfiai és mikroszkópos vizsgálati eredményei sze-



rint jóval ellenállóbbaknak bizonyulnak a reszorpciós folyamatokkal szemben, ha fluorid-tartalmuk magas, ezért feltételezhető, hogy a fluoridban gazdag csontokból a kalcium-mobilizáció lassúbb és ezért a mellékpajzsmirigy aktivitás kompenzatórikus fokozódása szükséges ahhoz, hogy a kalcium homeosztázis fel ne boruljon. SINGH [52] ugyanakkor krónikus fluorózisban szenvedő egyéneknél a mellékpajzsmirigy funkciót normálisnak találta. Az osteoporosisban alkalmazott fluoroterápia részletezésénél a későbbiekben még utalunk a fluorid és a mellékpajzsmirigy funkció közötti kapcsolatra.

### 3. Fluorid és a mellékvese

CHEON [15] fejlődő patkányoknál több hétig tartó nátriumfluorid-kezelés után nem tapasztalt eltérést a mellékvese adrenalin és noradrenalin szintjében. DENICOLA [38] egy hétig tartó nátriumfluorid kezelés hatására patkányoknál a mellékvesék kismértékű hipertrófiáját tapasztalta és a plazma, valamint a mellékvese kortikoszteron tartalmának a növekedéséről számolt be. Véleménye szerint *in vivo* körülmények között a fluorid a hipotalamusz — hipofízis — mellékvese rendszer stimulációját eredményezi. Nem tisztázott azonban, hogy a fluorid az ACTH szekrécióért felelős agyi struktúra stimulálása útján (CRF) hat, vagy inkább úgy, mint egy nem specifikus stresszor. A fluoriddal kezelt állatcsoport testsúlyában tapasztalható csökkenés inkább az utóbbi lehetőséget támasztja alá.

#### *Fluorid és a vitaminok*

Különböző vitaminoknak a fluorid anyagcserére gyakorolt hatását elemző közlemények csak igen szórványosan lelhetők fel az irodalomban. Ezek alól kivételt csak a D-vitamin képez. D-vitaminnak a fluorid-anyagcserére kifejtett hatása elsősorban a kalcium-anyagcserével áll összefüggésben, és a hatás a bevitt kalcium mennyiségétől függően változhat. D-vitamin általában fokozza a fluorid retenciót a szervezetben. D<sub>2</sub>-vitamin a diéta kalciumtartalmától függetlenül képes csökkenteni a plazma fluoridszintjét [28]. STOOKEY [61] tiáminban gazdag diéta esetén a fluorid retenció szignifikánsan alacsonyabb fokáról számolt be patkányok esetében. Előbbi szerző riboflavin hatását vizsgálva [60] arra a megállapításra jutott, hogy csak igen magas, illetve jelentősen csökkentett riboflavin ellátás esetén mutatható ki a riboflavinnak a fluorid retencióját befolyásoló hatása. Riboflavin deficiens állapotban fokozódik a fluorid retenció, fokozott riboflavin bevitelekor pedig csökken annak mértéke. Optimális, vagy ahhoz közel álló riboflavin ellátottság esetén viszont nem mutatható ki a fluorid retencióban eltérés. A caries prevenció céljából adagolt, fluort tartalmazó tabletták esetében is történtek próbálkozások különböző vitaminoknak a tablettába keverésével. A kisszámú vizsgálati eredmények alapján nem látszik valószínűnek, hogy ezen kombinált készítményekben a vitamin mennyisége és/vagy fajtája figyelemre méltó hatást gyakorolna a fluorid-anyagcserére, illetve annak a fogak anyagcseréjében betöltött szerepére.

#### **A fluorid toxikológiája**

A szervezet fluorid-forgalmát és a fluorid anyagcseréhatásait áttekintvén megállapíthatjuk, hogy a fluorid alkalmazásának kétségtelenül lehetnek bizonyos veszélyei is. Fluoridból testsúlykilogrammmra vonatkoztatva az optimális



adag 1 éves kor alatt 0,045 mg, de az életkor előrehaladtával ez a mennyiség csökken; egy 60 kg súlyú felnőtt számára 0,026 mg az optimális. A biztosan tolerálható dózis ennél 50%-kal több [63], de ugyanakkor az is igaz, hogy az életkorral a tolerálható mennyiség is csökken. A fluorid toxikus hatásainak kialakulását és a tünetek hátterében álló folyamatok mechanizmusát elsősorban állatkísérletes vizsgálatok hivatottak tisztázni. Az egyes fajok azonban nem egyformán érzékenyek fluoridra. Patkányok fluorid-toleranciájában a két nem között nem észlelhető különbség. Fejlődésben levő állatok 2,5-szer több fluoridot képesek tolerálni a felnőtt állatokhoz képest. A fiatal állatok fluorid-toxikózissal szemben mutatott fokozott defenzív mechanizmusa valószínűleg a mineralizálódó szövetekbe történő rapid fluoridbeépülés, illetve a fokozottabb fluoridkiválasztás eredménye, s ilyen körülmények között nyilvánvalóan kisebb az esély a fluorid érzékeny sejtek, illetve enzimek károsodására is.

### *Akut intoxikáció*

Az akut intoxikációt okozó fluorid dózisa az alkalmazás módjától függ. DYBING [20] patkányoknál a nátriumfluorid LD<sub>50</sub> értékét 250 mg/kg-ban határozta meg orális alkalmazás esetén. Intraperitoneális alkalmazáskor ez az érték 40 mg/kg hím állatoknál. Egereknél 46 mg/kg az orális és 23 mg/kg az intravénás akut toxikus dózis [72]. Emberre 5 g nátriumfluorid jelenti az akut, halálos dózist. Ha a fluoridot diétába keverve adagolják, 2000 ppm fluorid-tartalom esetén tapasztalható egereknél 100%-os mortalitás [72]. 8–10 µg/ml vagy annál magasabb plazma fluoridkoncentráció általában halállal jár a dózistól, a kísérleti állatok testsúlyától (életkorától) függetlenül, de a fluortoxikózis az idősebb állatoknál jóval rapidabban alakul ki. Korábban felvetődött, hogy a kolinészteráz gátlása kapcsolatban áll a fluorid toxikus hatásaival. *In vivo* vizsgálatok patkányoknál ezt nem erősítették meg [20]. A masszív fluorid-terhelés következtében beálló halál oka ma sem ismeretes, de a sejtleggés általános gátlását gyakran tartják alapvető okaként [59]. A fluorid szöveti légzést gátló hatása legkifejezettebben a vese kéregben, illetve májszeleteken észlelhető. Intraperitoneálisan adott LD<sub>50</sub> körüli dózis esetén az intoxikációs tünetek 5–10 perccel az injekció beadását követően jelentkeznek. Csökken a motoros aktivitás, ataxia és rendszerint kifejezett tetániás görcsök lépnek fel. A bőr cianotikussá válik. A szemben vöröses barna exudátum figyelhető meg. A halál komatózus állapotban, fél órával az injekciót követően következik be. Alhasi vérbőség és egyes esetekben ascites is megfigyelhető. DEVOTO [16] terhes patkányoknak intraperitoneálisan fluoridot adagolt, és ennek következtében nagy százalékban talált intrauterin elhalt foetusokat. Feltételezése szerint a fluorid direkt a peritoneális folyadékön keresztül hat, és a placenta nekrozisát idézi elő. (Meg kell jegyeznünk, hogy a humán placenta szerkezete különbözik a patkányétól.) Az akut fluoridexpozíció vesefunkciós zavarokat is előidézhet.

### *Krónikus intoxikáció*

Humán vonatkozásban a krónikus intoxikáció a gyakoribb, és kialakulására is nagyobb az esély. Az élelmiszerek feldolgozásából, kezeléséből, csomagolásukból, a növényvédelmi célokra való és ipari felhasználásából eredően a takarmányba, az élelmiszerekbe, a levegőbe, a csapadékbba szennyezésként be-



kerülő fluorid mennyisége nem közömbös a szervezet napi fluoridterhelése szempontjából, éppúgy, mint a fluoriddal szennyezett körzetben eltöltött idő sem. A krónikus fluoridbevitel következtében kialakuló kórfolyamat rendkívül sokféle tünetben nyilvánulhat meg. A szervetlen fluorvegyületek által okozott szervi, szöveti és funkcionális károsodások csoportosítását előfordulási gyakoriságuk szerint Sós [53] végezte el. Ezek sorából csak a legfontosabbakról teszünk említést.

### 1. Foltos zománc

Tartósan magas fluoridbevitelkor a fluoridtoxicitás első jele a fogzománc elszíneződése. BLACK [10] közlése óta igen sokan foglalkoztak a foltos zománc és a fluorózis kérdésével. Ha az ivóvíz legalább 2 ppm fluoridot tartalmaz az élet első nyolc évében, foltos zománc képződik, amely a fogak 3—4%-át érinti. A vér fluoridtükre rendszerint jól jelzi a zománc fluorózis meglétét és annak súlyossági fokát is. A dentális fluorózis súlyossága az ivóvíz fluoridtartalmától, klimatikus körülményektől és a vízfogyasztás mértékétől is függ. KLEIN [32] hereditær diabetes insipidusban szenvedő család vizsgálatakor a fogak enyhétől súlyos fokig terjedő fluorózisát figyelte meg, ezért felhívja a figyelmet arra, hogy a szokásosnál jóval nagyobb mennyiségű folyadékfelvétel esetén az optimálisnál alacsonyabb fluoridtartalmú ivóvíz fogyasztása is létrehozhat fluorózt. A fogzománc fejlődése és mineralizációja során kialakuló foltos zománc létrejöttének pontos mechanizmusa máig sem tisztázott. Humán vizsgálatok adatai szerint a foltos zománc mikroszkópos képe a hipopláziás károsodás súlyosságától függ. Kevésbé súlyos esetekben a zománc felszíne megtartott, míg súlyosabb formáinál gödörszerű mélyedés figyelhető meg a zománc felszínén. A foltos zománc külső harmada pigmentált. Érdekes, hogy a foltos rész festékanyagokkal szembeni fokozott permeabilitásához a savoldékonyság csökkenése járul. A fluorid zománcra gyakorolt hatása a zománc fejlődésének mind az organikus, mind pedig az anorganikus szakaszában érvényesül.

### 2. Csontfluorózis

A fluorotoxicitás okozta osteopathia a fluorid okozta kóros elváltozások között ugyancsak vezető helyet foglal el (az összes esetek mintegy 36,5%-ában fordul elő csontelváltozás) [53]. A csontfluorózis főleg olyan földrajzi körzetekben jellemző, ahol az ivóvíz fluoridtartalma kifejezetten magas (pl. India vagy Kína bizonyos részein), de ugyancsak kifejlődhet ipari körzetekben inhalációs fluorid-expozíció következtében. Pontosan nem határozható ugyan meg, hogy mennyi fluorid bevitelére vagy inhalációjára volna szükség ahhoz, hogy manifeszt elváltozások alakuljanak ki a csontokban, de körülbelül 4—5 mg napi fluoridbevitel jelenti azt a határt, amely még nem idéz elő veszélyesen nagy fluorid-felhalmozódást a szervezetben. Az endémiás fluorózis rendszerint enyhébb, kevésbé súlyos csontelváltozásokat okoz, mint az ipari fluorózis. A csontfluorózis súlyosságát nem tükrözi a dentális fluorózis mértéke, amely a két szövet eltérő metabolizmusával magyarázható. Hogy milyen módon fejti ki károsító hatását a csontokra a fluorid, nem tisztázott, de feltételezik, hogy a csontszövet anyagcseréjében szerepet játszó bizonyos enzimek működésére hatva a csont ásványi összetevőit, illetve azoknak az organikus mátrixba való épülését befolyásolja. Csontfluorózisban igen korai radiológiai jel a csontok denzitásának fokozódása. A csontok súlya is megnő. Fokozatosan fellépnek a klinikai tünetek is; az ízületekben és a gerinc tájon fájdalom támad, majd a



gerinc merevvé válik és mozgáskorlátozottság lép fel. Több ízület nehezen mozgatható. A mellkas kitérésének akadályoztatottsága dyspnoet vált ki. Az izmok és az inak tapadási helyén exostosisok figyelhetők meg. A gerinc szalagok elmeszesednek, a csigolyatestek megvastagodnak, a gerinccsatorna antero-posterior irányban beszűkül. A csontfluorózis igen jellegzetes és súlyos formája a „Poker back” szindróma, amely elsősorban Kína olyan területein fordul elő nagy gyakorisággal, ahol az ivóvíz fluoridtartalma nagyobb mint 5 mg/l [53].

### 3. Egyéb szervi elváltozások

Kiemelésre érdemes ebből a csoportból a vese. Az ép vesefunkció a normális fluorid-kiválasztás feltétele. A korábbiakban már utaltunk arra, hogy a vesefunkció károsodása a fluorid retenciót növeli a szervezetben (34. o.) és így a retardált fluorid elimináció a toxikózis esélyét is növeli. WHITFORD [75] patkányoknak intravénásan adagolt fluoridot. Ilyen körülmények között a plazma fluoridkoncentrációja 200—300  $\mu\text{M}$  között változott. Megállapította, hogy a plazma fluoridszintjének növekedésével párhuzamosan csökkent a GFR, egészen a kontroll 50%-áig. A plazma fluoridkoncentrációja és a GFR között inverz összefüggés állapítható meg. A fluorid-clearance csökkenése ezek alapján a fluorid GFR-t csökkentő hatásának is lehet a következménye. Mások fluorid terhelés hatására a vese koncentrálóképességének a csökkenéséről számoltak be [24].

A fluorid károsító hatását — ha részleteiben nem is — a gyomorműködéssel kapcsolatban is vizsgálták. Zsírok jelenlétében a fluorid csökkenti a gyomorürülést. A fluorid gyomor-nyálkahártyára gyakorolt hatásával kapcsolatban viszont csak igen kisszámú megfigyelésre támaszkodhatunk. BOND és HUNT [11] közölték, hogy  $^{24}\text{Na}$ -ot adva macskának, az a gyomorból igen gyorsan a keringésbe jut, ha fluorid van jelen (10 mM), de csak igen lassan megy végbe a folyamat fluorid hiányában. Feltételezésük szerint a fluorid a gyomor-nyálkahártya barriert károsítja. A fluorid 10 mM-os koncentrációban patkányok hisztaminnal stimulált savszekrécióját felfüggeszti. Ilyen esetben az ATP-áz fluoriddal történő gátlása magyarázhatja, hogy az aktív transzporthoz szükséges energia nem áll kellő mértékben rendelkezésre.

Az elmondottakból következik, hogy a fluorid alkalmazása nagy körültekintést igénylő feladat, annál is inkább mivel a különböző permisszív hatásokkal is törődnünk kell. A táplálkozási szokások, az étrend, az ételnemű fajtája, elkészítésének módja, a napi folyadékbevitel, az ivóvíz fluoridtartalma, a munkahelyi körülmények, az éghajlati viszonyok, a szervezet állapota, bizonyos betegségek, az életkor és még sorolhatnánk hosszasan azokat a tényezőket, amelyek a toxikózis szempontjából mindenképpen mérlegelendők. Mivel nagyon sok körülmény szólhat bele a szervezet fluoridterhelésébe és számos kérdés a fluorid hatásaira vonatkozóan megválaszolatlan, nehéz egyértelműen megmondani, hogy milyen mértékű fluoridbevitel nem jelent toxikológiai veszélyt. Amellett, hogy a fluoridnak a caries megelőzésében tapasztalható előnyeit hangsúlyozzuk, szükséges — alkalmazásával összefüggésben — kedvezőtlen, nem várt hatásaira és veszélyeire is felhívni a figyelmet. AUERMANN [6] számításai szerint 0,2 ppm fluoridtartalmú ivóvíz fogyasztásakor a bevitt fluorid mennyiség magas hőmérsékletű helyen dolgozó személyeknél 3—12-szerre magasabb lehet mint az átlagos.



## A fluorid klinikai jelentősége

A fluorid klinikai és terápiás jelentőségét alapvetően két dolog határozza meg:

- az egyik az immár több évtizede tapasztalt és igazolt caries redukív hatása,
- a másik pedig a csontstruktúrát stabilizáló hatása.

Az előbbi a caries megelőzését célzó módszerekben való felhasználását, az utóbbi pedig az osteoporosis gyógyításában történő alkalmazását eredményezte.

### *Törekvések a caries fluoriddal történő megelőzésére*

A caries civilizációs betegség, igen nagyszámú népességet érint, ezért megelőzésére olyan módszerek kerültek az utóbbi évtizedekben kidolgozásra, amelyek segítségével kellő hatékonysággal és nem utolsó sorban gazdaságosan lehet a caries-hajlamot csökkenteni tömegméretekben. Statisztikai felmérések szerint 12—14 éves gyermekeknél — akik születésüktől fogva 1 ppm körüli fluoridtartalmú ivóvizet fogyasztanak — a caries redukció mintegy 50%-os értéket ér el. Ezen megfigyelések óta igen nagy számban és világszerte megindultak azok a törekvések, amelyek célja a cariostaticus hatás szempontjából optimális fluorid-ellátottság biztosítása. Végeredményben ennek érdekében kezdődött meg a fluoridban szegény ivóvíz, illetve a konyhasó és a tej fluoridúsítása is. Az 5—15 éves fluorid-expozíciós időtartamra vonatkozó újabb statisztikai értékelések is 50—68%-os caries incidencia csökkenésről számolnak be 1 ppm fluoridot tartalmazó ivóvíz fogyasztása esetén. A legjobb eredmények olyan esetben tapasztalhatók, amikor a fluoridbevitel a születéstől kezdődően folyamatosan és optimális mennyiségben biztosítva van. A fluorid protektív hatása azonban akkor is érvényesül, ha a fluoridálás a fogak előtörését követően indul meg és gyakorlatilag sikeresnek mondható alkalmazása, bármely életkorban is kezdődik bevezetése. A fluorid kiegészítés a szuvas terület kiterjedését és az extrakcióra kerülő fogak számát is csökkenti. A fluorid protektív hatását több irányban fejti ki. A fogak fejlődése idején a legalapvetőbb a fluorid zománcba történő inkorporációja, amely a fogak előtörése után is tovább folyik. A zománc felszínének magasabb fluoridtartalma a zománc savoldékony-ságát csökkenti. Ebben a periódusban a fluorid a fogak organikus mátrixát is befolyásolja. A fogak előtörése után a fluorid lokális hatásai kerülnek előtérbe, melyek közül a legfontosabbak: a helyi savhatást követő remineralizáció serkentése, a cariogen baktériumok anyagcserejére gyakorolt hatás, a plakk-baktériumok savtermelésének gátlása [40], a bakteriális poliszaharid szintézis gátlása, továbbá az exponált fogfelszín kalcium „release”-ének gátlása.

A konyhasó fluoridúsításával kapcsolatos vizsgálatok hazánkban 1966-ban kezdődtek meg 250 ppm fluoridot tartalmazó konyhasóval. TóTH [68] adatai szerint a fluorozott konyhasó cariostaticus hatása éppoly jó, mint a fluorozott ivóvízé (körülbelül 50%-kal csökken a carieses fogak száma). A konyhasóval bejuttatott fluorid éppúgy beépül a fog keményszöveteibe mint a vízzel felvett fluorid.

Ugyancsak hosszú évek óta folynak vizsgálatok számos európai országban fluoridot tartalmazó tablettákkal. A tabletták fluoridtartalma változó, aminek az az oka, hogy az egyes földrajzi körzetekben, országokban az ivóvíz fluorid-



tartalma változó, továbbá az egyéb élelmiszerek útján bejuttatott fluorid mennyisége is eltérő. Ilyen megfontolás alapján a fluorid-kiegészítés mértéke sem lehet azonos. A cariostaticus hatás nagysága — tablettá segítségével történő fluorid-kiegészítéskor — különbözhet az ivóvíz útján megvalósított kiegészítés hatásától. Ennek az a magyarázata, hogy az előbbi esetben nem napjában többször, kis részletekben történik a fluoridbevitel, hanem rendszerint naponta egy alkalommal, s ilyenformán a fluorideloszlás, -felhasználás és -kiválasztás sem teljesen azonos módon és sebességgel megy végbe, mint az ivóvíz esetében. Az is hozzájárulhat ugyanakkor a meglévő különbségekhez, hogy ha a tablettát szétrágják vagy szopogatják — ahogy az általában kívánatos, — az lokálisan jóval magasabb fluoridkoncentrációt teremt a fogak környezetében, mint ahogy az az ivóvíz esetében tapasztalható. Fluoridtartalmú tabletták cariostaticus hatása mind a tejfogakon, mind pedig a maradó fogakon tapasztalható. A legtöbb szerző véleménye megegyezik abban, hogy a fluorid kezelést legalább 12—14 éves korig folytatni kell és ezt követően sem szabad teljesen beszüntetni. A fluorid alkalmazását a továbbiakban is folytatni kell — legalább időszakosan ismételve — valamilyen lokálisan ható fluoridkészítménnyel (fluoridos ecsetelés, fogpaszta, szájvíz stb.) [2].

### *Próbálkozások az osteoporosis fluoriddal történő gyógyítására*

A fluoridnak az osteoporosis kezelésében történő alkalmazását az vetette fel, hogy leírták róla, hogy osteosclerosist hozhat létre. Kétségtelenül igaz, hogy az osteoporosis ritkábban fordul elő olyan vidékeken, ahol az ivóvíz fluoridtartalma magas. Állatkísérletes körülmények között azonban előzetes fluoridkezeléssel és annak következtében a csontokban kialakuló magas fluoridtartalommal nem védhető ki, sőt nem is enyhíthető a kalcium és foszfor hiányos diétával előidézhető osteoporosis [34]. A fluoridot több-kevesebb eredménnyel, viszonylag nagy dózishban (25—100 mg/die) és hosszú ideig alkalmazták a betegség gyógyítására [31, 55]. Alkalmazásának sikerét az alábbiak alapján tételezhetjük fel:

- a fluoridnak a csontok ásványi szerkezetébe történő beépülése következtében keletkező fluorapatit csökkent oldékonyságot mutat, mivel a fluorid gátolja az oszteoklasztos tevékenység következtében bekövetkező csontreszorpciót, és
- fokozza az oszteoblasztos tevékenységet, amellyel egyidejűleg a matrix-produkció is fokozódik.

Az, hogy a csontatrofiát a fluorid az új csont képződésének stimulálása és vagy a reszorpció csökkentése révén befolyásolja-e elsődlegesen, s melyik mechanizmus felelős a netto csontvesztés redukciójáért, még nem eldöntött kérdés. Mindenesetre a kalcium retenció növekedése, a kalcium „balance” pozitívává válása, valamint a vizeletbe történő kiválasztásának csökkenése [55] is jelzi a fluoroterápia hatékonyságát. Az osteoporosis fluoriddal történő kezelésekor azonban nagy valószínűséggel számolnunk kell a mellékpajzsmirigy aktivitásának fokozódásával, amelyet megerősítenek azok a klinikai vizsgálatok is, amelyek szerint a fluoridterápia során oszteomalacia is kialakul [31]. A mellékpajzsmirigyek fokozott működése magyarázhatja a csontfluorózisban előforduló osteitis fibrosa cystica-hoz hasonló elváltozásokat is. A parathyreoidea szekrécióját fokozó hypocalcaemiás állapotot az váltja ki, hogy a fluoridkezelés következtében a csontokból történő kalcium-mobilizáció nehezítetté válik



és/vagy az oszteoblasztok fokozott működése következtében nő a szervezet kalcium igénye. Az újonnan képződött csont mineralizációja nem tökéletes, hisztológiai képe oszteomalaciára utal. Az új osteoid kalciumtartalmát a szérum kalciumszint rovására igyekszik gyarapítani, ennek következménye a hypocalcaemia, majd másodlagosan a parathormon szekréció fokozódása. Újabban a fluoridnak kalciummal és D-vitaminnal való kombinációját javasolják az osteoporosis gyógyítására [31]. JOWSEY [31] klinikai tapasztalatai szerint naponta 50 mg nátrium-fluoriddal együtt adott 900 mg kalcium és hetenként egyszeri alkalommal adott 100 000 NE D-vitamin a secunder hyperparathyreoidismust és az osteomalaciát kivédi.

A jelenlegi adatok nem elégségesek ahhoz, hogy egyértelműen kijelenthessük a fluoridterápia nélkülözhetetlenségét, vagy éppen ellenkezőleg, mellőzését az osteoporosis gyógyításában. A terápia kérdését és annak módját további klinikai, radiológiai, hisztomorfológiai és állatkísérletes vizsgálatok hivatottak véglegesen eldönteni.

A fluorid szervezetre gyakorolt hatásainak veszélyes vagy veszélytelen voltát a mai ismeretek birtokában igen nehéz lenne általánosságban kijelenteni vagy eldönteni. Igaz, hogy ha kis mennyiségben történik a bevitele, a fogak a cariessel szemben ellenállóbbak lesznek és ilyen koncentrációban alkalmazva nem kívánatos mellékhatásokat nem tapasztaltak, de az is tény, hogy a fluoridok felhasználása folyamatosan nő és ezzel együtt a fluoridvegyületek környezetbe kerülése is fokozódik. Ezért *nagyon megfontolandó, hogy milyen körülmények között indikáljuk és alkalmazzuk a fluorid kiegészítést, illetve a fluoridterápiát.*

Befejezésképpen — a teljesség igénye nélkül — néhány elgondolkoztató adatra hívom fel a figyelmet:

- vesekárosult egyénekénél csökken a fluoridok kiválasztása;
- polydipsiával járó kórképeknél fokozódik az ivóvízzel felvett fluorid mennyisége [32];
- tartós fluoridexpozíció diabetogen hatású lehet;
- idősebb életkorban a fluoridok eliminációja lelassul, a tolerálható fluorid csökken [63];
- az alumíniumiparban dolgozóknál a csontrendszer elváltozásaiért az ipari fluoridszennyezés tehető elsősorban felelőssé;
- a fluoridanyagcserét, valamint a fluoridnak az anyagcserére gyakorolt hatásait a gyermekkorban vizsgáló közlemények csak igen szóróványosan lelhetők fel az irodalomban.

#### IRODALOM

1. ADLER, P. (1967) A fluor hatása az emberi fogazatra. *Fogorvosi Szemle*, **60**, 266—271.
2. ADLER, P. (1970) Fluorides and dental health. *WHO Monograph Series*, **59**, World Health Organization, Geneva, 323—357.
3. ALLMANN, D., JAMES, W., MAPES, P. and BENAC, M. (1975) Effect of nontoxic doses of F and Sn salts on rat liver metabolism *in vivo*. *J. Dent. Res.*, **54**, 189.
4. ALLMANN, D. W. and BENAC, M. (1976) Effect of inorganic fluoride salts on urine and tissue 3,5-cyclic-AMP concentration *in vivo*. *J. Dent. Res.*, **55**, 523.
5. ARMSTRONG, W. D. and SINGER, L. (1968) Regulation of plasma and tissue fluoride contents by the skeleton. *Proc. 6th Eur. Symp. Calcif. Tissues, Suppl.* **67**,
6. AUERMANN, E. and BORRIS, W. (1971) Fluoride intake in individuals of various age groups and under special conditions. *Caries Res.*, **5**, 11.
7. BATENBURG, J. J. and VAN DEN BERGH, S. G. (1972) The mechanism of inhibition of fluoride of mitochondrial fatty acid oxidation. *Biochim. Biophys. Acta*, **280**, 495—505.



8. BERNSTEIN, D. S. and COHEN, P. (1967) Use of sodium fluoride in the treatment of osteoporosis. *J. Clin. Endocrin.*, **27**, 197—210.
9. BIXLER, D. and MUHLER, J. C. (1960) Retention of fluoride in soft tissues of chickens receiving different fat diets. *J. Nutr.*, **70**, 26—30.
10. BLACK, G. V. and MCKAY, F. S. (1916) Mottled teeth. *Dent. Cosmos*, **58**, 129—156.
11. BOND, A. A. and HUNT, J. N. (1956) The effect of sodium fluoride on the output of some electrolytes from the gastric mucosa of cats. *J. Physiol.*, **133**, 317—329.
12. BOROS, I., KESZLER, P. és ZELLES, T. (1978) Funkcionális változások patkányok nyálmirigyében nátriumfluorid kezelést követően. *Magyar Élettani Társaság XLIV. Vándorgyűlésének Előadaskivonatai*, 95—96.
13. BOROS, I., TÓTH, Zs., KESZLER, P. és ZELLES, T. (1979) A szérum fluoridszintjének, valamint a stimulált submandibularis nyál fluoridkoncentrációjának vizsgálata 25 ppm fluoridot tartalmazó ivóvizet fogyasztó patkányokon. *Fogorvosi Szemle*, **72**, 371—375.
14. BÜTTNER, W. and KARLE, E. (1971) Chronic toxicity and retention of fluoride in the unilaterally nephrectomized rat. *Caries Res.*, **5**, 19.
15. CHEON, Y. S. and DISTEFANO, V. (1973) Effect of sodium fluoride on catecholamine concentrations in tissues from developing rats. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **24**, 468—473.
16. DEVOTO, F. C. H., PERROTTI, B. M., BORDONI, N. E. and ARIAS, N. H. (1972) Effect of sodium fluoride on the placenta in the rat. *Arch. Oral Biol.*, **17**, 371—374.
17. DIRKS, O. B., KÜNZEL, W. and CARLOS, J. P. (1978) Caries-preventive water fluoridation. *Caries Res.*, **12**, 7—14.
18. DOST, F. N., KNAUS, R. M., JOHNSON, D. E., and WANG, C. H. (1977) Fluoride impairment of glucose utilization: nature of effect in rats during and after continuous NaF infusion. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **41**, 451—458.
19. DUNNICK, J. K., MARINETTI, G. V. and GREENLAND, D. P. (1972) Effect of detergents and sodium fluoride on the enzyme activities of the rat liver plasma membrane. *Biochim. Biophys. Acta*, **266**, 684—694.
20. DYBING, O. and LOE, L. V. (1956) Fluoride poisoning and cholinesterase in rats. *Acta Pharmacol. Toxicol.*, **12**, 364—368.
21. EKSTRAND, J. (1978) Relationship between fluoride in the drinking water and the plasma fluoride concentration in man. *Caries Res.*, **12**, 123—127.
22. FERGUSON, D. B. (1976) The effects of low doses of fluoride on enzyme activity in rabbit serum. *Arch. Oral Biol.*, **21**, 449—450.
23. FERGUSON, D. B. (1976) The effect of low doses of fluoride on tissue enzyme activity in the rat. *Arch. Oral Biol.*, **21**, 447—448.
24. FRASCINO, J. A. (1972) Effect of inorganic fluoride on the renal concentrating mechanism. Possible nephrotoxicity in man. *J. Lab. Clin. Med.*, **79**, 192—203.
25. GABLER, W. L. (1968) Absorption of fluoride through the oral mucosa of rats. *Arch. Oral Biol.*, **13**, 619—623.
26. HADJIMARKOS, D. M. (1969) Selenium toxicity: Effect of fluoride, *Experientia*, **25**, 485—486.
27. HATTYASI, D. (1957) Speichel: Menge und Fluorgehalt in Ruhe nach Pilocarpinreizung. *Dtsch. Zahn-Mund-Kieferheilk.*, **27**, 339—346.
28. HAVIVI, E. (1972) Effect of calcium and vitamin D on fluoride metabolism. *Nutr. Metab.*, **14**, 257—261.
29. HUSDAN, H., VOGL, R., OREOPOULOS, D., CRYFE, C. and RAPAPORT, A. (1976) Serum ionic fluoride: normal range and relationship to the age and sex. *Clin. Chem.*, **22**, 1884—1888.
30. JARDILLIER, J. C. and DESMET, G. (1973) Etude de fluor sérique et de ses combinaisons par une technique utilisant une electrode spécifique. *Clin. Chim. Acta*, **47**, 357—363.
31. JOWSEY, J., RIGGS, B. L., KELLY, P. J. and HOFFMANN, D. L. (1972) Effect of combined therapy with sodium fluoride, vitamin D and calcium in osteoporosis. *Amer. J. Med.*, **53**, 43—49.
32. KLEIN, H. (1975) Dental fluorosis associated with hereditary diabetes insipidus. *OS OM OP*, **40**, 736—741.
33. KNAUS, R. M., DOST, F. N., JOHNSON, D. W. and WANG, C. H. (1976) Fluoride distribution in rats during and after continuous infusion of Na<sup>18</sup>F. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **38**, 335—344.
34. KUO, H. S. and WUTHIER, R. E. (1975) An investigation of fluoride protection against dietary induced osteoporosis in the rat. *Clin. Orthop.*, **110**, 324—331.
35. KUO, H. C. and STAMM, J. W. (1975) The relationship of creatinin clearance to serum fluoride concentration and urinary fluoride excretion in man. *Arch. Oral Biol.*, **20**, 235—238.



36. MAGIL, S. G., SINGER, L. and OPHAUG, R. H. (1976) Effect of fluoride and iron supplementation on lipids in bone and serum. *J. Dent. Res.*, **55**, 529.
37. MATHEWS, J. (1970) Effect of fluoride on metabolic pathways. In: SMITH, F. A. (ed.): *Handbook of pharmacology*. Vol. XX., Springer Verlag, Berlin, 98—143.
38. NICOLA, A. F., DE, KAPLAN, S., WEIMBERG YAMPEY, J. E., DE and SOTO, R. J. (1974) Effect of sodium fluoride treatment on adrenal function in the rat. *Acta Physiol. Lat. Am.*, **24**, 119—124.
39. PARKINS, F. M. and GREENLIMB, P. E. (1974) Fluoride secretion in rat bile. *J. Dent. Res.* **53**, 68—70.
40. SANDHAM, H. J. and KLEINBERG, I. (1973) Effect of fluoride on carbon dioxide and acid formation in salivary sediment mixtures incubated with glucose. *Arch. Oral Biol.*, **18**, 211—225.
41. SCHMIDT, H. J. (1972) Die Milchfluoridierung zur Vorbeugung des Zahnkariesbefalles. *Österreichische Z. Stomat.*, **69**, 426—432.
42. SHANNON, I. L., SUDDICK, R. P. and EDMONDS, E. J. (1973) Effect of rate of gland function on parotid saliva fluoride concentration in the human. *Caries Res.*, **7**, 1—10.
43. SHANNON, I. L., SUDDICK, R. P. and DOWD, F. J. (1974) Saliva: composition and secretion. III. Fluoride. In: MYERS, H. M. (ed.): *Monographs in oral science*. Karger, Basel, 43—52.
44. SHANNON, I. L. and SANDERS, D. M. (1979) Urinary fluoride concentration in 6-to 9-year-old children drinking water with a very low fluoride level. *Caries Res.*, **13**, 18—22.
45. SHEARER, T. R. and SUTTIE, J. W. (1970) Effect of fluoride on glycolytic and citric acid cycle metabolites in rat liver. *J. Nutr.*, **100**, 749—756.
46. SHEARER, T. R., LE SAOUTER, J. J. and SUTTIE, J. W. (1971) Effect of toxic levels of dietary fluoride on citrate metabolism in the rat. *J. Nutr.*, **101**, 1037—1044.
47. SHEARER, T. R. and SUTTIE, J. W. (1971) The effect of dietary fluoride on plasma free amino acid concentrations in the rat. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **138**, 661—664.
48. SHEARER, T. R. (1972) Liver citrate levels in parathyroidectomized rats fed toxic amounts of inorganic fluoride. *Arch. Oral Biol.*, **17**, 1629—1632.
49. SHEARER, T. R. (1974) Comparative metabolic responses of rat kidney and liver to acute doses of fluoride. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **146**, 209—212.
50. SIEVERT, A. H. and PHILLIPS, P. H. (1959) Metabolic studies on the sodium fluoride-fed rat. *J. Nutr.*, **68**, 190—120.
51. SINGER, L. and ARMSTRONG, W. D. (1960) Regulation of human plasma fluoride concentration. *J. Appl. Physiol.*, **15**, 508—510.
52. SINGH, A., SINGH, B. M., SING, I. D., JOLLY, S. S. and MALHOTRA, K. C. (1966) Parathyroid function in endemic fluorosis. *Ind. J. Med. Res.*, **54**, 591—597.
53. SÓS, J. (1967) A fluor-ion élet- és kórtani hatásai. *Fogorvosi Szemle*, **9**, 259—266.
54. SPENCER, H., LEWIN, I., WIATROWSKI, E. and SAMACHSON, J. (1970) Fluoride metabolism in man. *Amer. J. Med.*, **49**, 807—813.
55. SPENCER, H., LEWIN, I., OSIS, D. and SAMACHSON, J. (1970) Studies of fluoride and calcium metabolism in patients with osteoporosis. *Amer. J. Med.*, **49**, 814—822.
56. STOOKEY, G. K., CRANE, D. B. and MUHLER, J. C. (1962) Effect of molybdenum on fluoride absorption. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **109**, 580—583.
57. STOOKEY, G. K., ROBERTS, R. A. and MUHLER, J. C. (1962) Synergistic effect of molybdenum and fluoride on dental caries in the rat. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **109**, 702—705.
58. STOOKEY, G. K., CRANE, D. B. and MUHLER, J. C. (1964) Further studies on fluoride absorption. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **15**, 295—298.
59. STOOKEY, G. K., DELLINGER, E. L. and MUHLER, J. C. (1964) *In vitro* studies concerning fluoride absorption. *Proc. Soc. Exp. Biol. N. Y.*, **115**, 298—301.
60. STOOKEY, G. K. (1973) Influence of riboflavine on fluoride metabolism in the rat. *J. Dent. Res.*, **52**, 843.
61. STOOKEY, G. K. (1974) Influence of thiamine on fluoride retention in the rat. *J. Dent. Res.*, **53**, 139.
62. TARJÁN, R. (1974) Élelmezéségeszségügyi problémák a konyhasó fluorozásával kapcsolatban. *Egészségtudomány*, **18**, 179—181.
63. TÓTH, K. (1975) Optimum and tolerated intake of fluorine. *Acta Med. Acad. Sci. Hung.*, **32**, 1—14.
64. TÓTH, K. and SUGÁR, E. (1975) Urinary fluoride levels after consumption of fluoride-poor drinking waters in Hungary. *Acta Physiol. Acad. Sci. Hung.*, **46**, 37—49.
65. TÓTH, K. and SUGÁR, E. (1976) Factors influencing the urinary fluoride level in subjects drinking fluoride-poor waters. *Acta Physiol. Acad. Sci. Hung.*, **47**, 55—63.



66. TÓTH, K. and SUGÁR, E. (1976) Effect of drinking waters of high fluoride content on the urinary fluoride level. *Acta Physiol. Acad. Sci. Hung.*, **47**, 65—72.
67. TÓTH, K. and SUGÁR, E. (1976) Urinary fluoride levels of population groups consuming salts different in fluoride concentration. *Acta Physiol. Acad. Sci. Hung.*, **47**, 73—83.
68. TÓTH, K. (1976) A study of 8 years domestic salt fluoridation for prevention of caries. *Commun. Dent. Oral Epidemiol.*, **4**, 106—110.
69. TÓTH, K. (1977) A fogszuvasodás megelőzése és a háztartási só fluorozása. *Fogorvosi Szemle*, **70**, 225—232.
70. TÓTH, K., SONKODI, I., HEGYESI, F. és TÁTRAI, J. (1977) Összehasonlító vizsgálatok a fogszuvasodás megelőzésére kétfajta (200 mg és 250 mg/kg/háztartási só) fluorid keverékekkel. *Népegészségügy*, **58**, 353—355.
71. WARBURG, O. and CHRISTIAN, W. (1941) Chemical mechanism of fluoride inhibition of yeast. *Naturwissenschaften*, **29**, 590.
72. WEBER, C. W. and REID, B. L. (1969) Fluoride toxicity in the mouse. *J. Nutr.*, **97**, 90—94.
73. WEDDLE, D. A. and MUHLER, J. C. (1960) The effect of calcium and phosphorus on fluoride absorption. *J. Dent. Res.*, **39**, 49—52.
74. WHITFORD, G. M. (1976) Influence of acid-base status on fluoride metabolism. In: *Dental Research in the United States and other countries*. DHEW Publication, 1—76.
75. WITHFORD, G. and PASHLEY, D. (1976) Fluoride depression of glomerular filtration rate in rats. *J. Dent. Res.*, **55**, 526.
76. WITHFORD, G., PASHLEY, D., REYNOLDS, K. and STRINGER, G. (1976) Fluoride absorption from the urinary bladder as a function of pH. *J. Dent. Res.*, **55**, 527.
77. WOLINSKY, I., SIMKIN, A. and GUGGENHEIM, K. (1972) Effects of fluoride on metabolism and mechanical properties of rat bone. *Amer. J. Physiol.*, **223**, 46—50.
78. ZEBROWSKI, E. J., SUTTIE, J. W. and PHILLIPS, P. H. (1964) Metabolic studies in fluoride-fed rats. *Fed. Proc.*, **23**, 502.

## FLUORIDE AND ITS BIOLOGICAL SIGNIFICANCE

*Boros, Ildikó*

Research Group of Oral Biology

Faculty of Dentistry, Semmelweis University of Medicine,  
Budapest, Hungary

In this article the author gives a summary of the newest literature on the fluoride metabolism of the human body. This includes fluoride absorption, -distribution, -storage and the possible mechanisms of its excretion. The influence of fluoride on the intermediary and mineral metabolism, as well as on the enzyme activities in the metabolic pathways are described in detail, the influence of fluoride on the endocrine glands and the toxicological questions are summarized in a separate chapter. Finally, the caries-reducing mechanism of fluoride — which is of high clinical significance — and the experiences of its possible use in the therapy of osteoporosis are also discussed.







## A METAMORFÓZIS: A KÉTÉLTŰEK (ANURÁK) SAJÁTOS FEJLŐDÉSBIOLÓGIAI FOLYAMATA

KAPA ESZTER

Semmelweis Orvostudományi Egyetem Biológiai Intézete, Budapest

Beérkezett: 1980. április 23-án

*Kulcsszavak:* célszerv, evolúció, metamorfogenezis, szabályozás

### A metamorfózis, mint fejlődésbiológiai probléma

GUDERNATSCH 1912-ben írt először arról, hogy a pajzsmirigy hormonjának elsődleges szerepe van a kétéltűek metamorfózisának meggyorsításában. Az eltelt évtizedek alatt sok adat gyűlt össze a hormonhatással kapcsolatos morfológiai és biokémiai részletekről is. A tiroxin befolyásolja a metamorfózist, de egyértelműen nem tisztázott a részvétel módja, nevezetesen, hogy mi az az alapmechanizmus, amelyben ez a hormon közvetlenül részt vesz, vagy pedig, mint serkentő (trigger) hogyan képes a metamorfózist befolyásolni.

A kétéltűek metamorfózisával kapcsolatban le kell szögezni:

1. A metamorfózis nem izolált jelenség a kétéltűek életében, hanem olyan reakciók összessége, amelyekben meghatározott sorrendben több szöveti rendszer vesz részt. Ezeknek a folyamatoknak eredményeként a vízben élő lárvából szárazföldi (felnőtt) egyed képződik.

2. A tiroxin váltja ki (iniciálja) a metamorfózisra utaló reakciókat; a szervezetben a hormonkoncentráció növekedése a folyamat gyorsulását idézi elő, azonban a reakció természetét nem változtatja meg.

Nem tisztázott, hogy vajon a hormon serkentő hatását meghatározott célszerveken keresztül éri el, vagy pedig a májra vagy a belsőelválasztású mirigyek egyikére van hatással. A hormonhatás lokalizálásának tisztázására először HARTWIG [37] végzett kísérleteket. Szalamandra lárvába, a fark területére, tiroxinnal átitatott agar kockát implantált. Ezzel a módszerrel a kísérlet során a metamorfózissal kapcsolatos változások pontosan nyomonkövethetők. Ilyen, lokalizáltan vizsgálható metamorfózist váltottak ki emlős és kétéltű pajzsmirigy implantációval is. Golyócskák formájában ültettek be — implantáltak — tiroxint, amelyet inaktív anyaggal így pl. koleszterinnel keverték össze [61]. Kontrollként a csak koleszterin tartalmú golyócskák szolgáltak. Análizálva a metamorfotizáló képleteket, jól kimutatható volt a tiroxin lokális hatása. A hormon direkt szöveti hatásának tárgyalására később még visszatérünk.

### A célszerv evolúciója

Párhuzamosan avval a fejlődési folyamattal, ahogyan az állati szervezetelek mind bonyolultabb szervezettségűek lettek, néhány endokrin mirigy olyan rendszerré alakult, hogy csak a *belső* környezetből származó információkat is továbbítja.



A természetes szelekció útján létrejövő evolúció tulajdonképpen a genotípus relatív gyakoriságának változása olyan irányban, hogy a változás a fenotípusban a következő generációban képes legyen megjelenni.

Az endokrin rendszer evolúcióját a következő szempontok szerint tekinthetjük át: 1. az endokrin szervek evolúciója, 2. a hormon molekulák evolúciója, 3. a hormon-kötő fehérjék evolúciója; ilyenek pl. a neurophysin, az inzulin C-peptidje stb., 4. a hormont szállító proteinek evolúciója; ilyenek: az emlősökben a tiroxint megkötő globulin, a primatesekben a tiroxint megkötő prealbumin, 5. a célszerv evolúciója, 6. a hormon és célszerve közötti kapcsolat, mint a negatív feedback mechanizmus evolúciója.

### *1. Az evolúció a funkció és a hormonokkal való kapcsolat szempontjából*

Az evolúció során az élő szervezetek a rájuk ható hormonokkal a sejtmembránban, ill. a citoplazmában található speciális struktúrákon, a receptoron keresztül kerülnek kapcsolatba. Az újonnan feltűnő hormonokra a választ a membránmintázatban jelenlevő, addig inaktív receptorok aktiválódása teszi lehetővé. Biztosítja többek között a folyamatos alkalmazkodást a változó környezeti feltételekhez [12, 13].

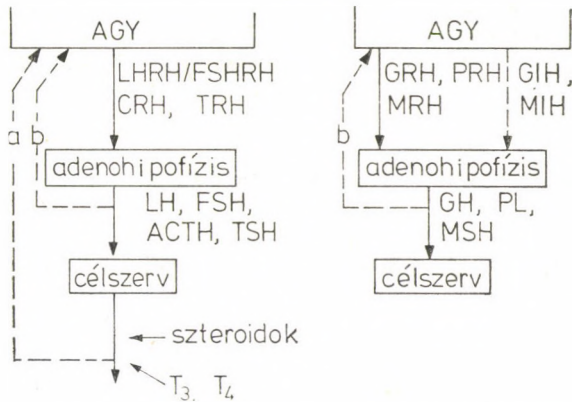
Az állatokban egy adott hormon számára nem csak egy célszerv található, kialakul ez a helyzet anélkül, hogy akár új hormonok, akár pedig új endokrin mirigyek képződnének a megfelelő célszervhez. Más szóval egy adott hormonra az állatokban megjelennek receptorok a különböző fejlődő szövetekben vagy szervekben. Az egyes receptorok az őket ért indukciós hatásoknak megfelelően különböző funkciókat látnak majd el. Például a gerincesekben a prolaktinnak több mint 15 célszerve van. Az állatok számára könnyebb „előhívni” a célszervekben rendszerint jelenlevő receptorokat. Azonban, ha az adott hormon — természetes körülmények között a filogenezis során — nem alkalmas az adott élőlények számára, akkor az új hormonokra a már meglévő szerveket felépítő sejtek membrán- vagy citoszol-receptorai reagálnak és ezzel a hormon számára mintegy új célszervet is képeznek. Ahol a célszervek kifejlődnek azokkal alkalmazkodnak, mintegy hozzá igazodnak a külső környezet-höz. A célszervek, ha egyszer megjelentek, új kapcsolatot teremtettek a hormonokkal, újból elsajátítják a belső környezethez történő igazodás komplex feladatát.

### *2. Az evolúció a belső környezet átalakításával*

Például vegyük a negatív feedback mechanizmust. Ez a példa egyúttal a hormon és a célszerv közötti adaptációs kapcsolatok evolúcióját is jelenti. A hipotalamusz releasing hormonjai (LH-RH, FSH-RH, CRH és TRH) az adenohipofízis gonadotropin-, ACTH-, ill. TSH-szekrécióját stimulálják.

Ezek a hipofízis hormonok a mellékvese szteroid és a pajzsmirigy hormonok szekrécióját indukálják, azok pedig visszahatva az agyra az RH (releasing hormon) gátlását váltják ki. Ilyen esetekben nincs szükség az inhibiting hormonra (IH). Tehát az állatokban kialakul a negatív feedback mechanizmus. A feedback mechanizmus rövid pályája jó példa a célszerv és a hormonok közötti kapcsolat adaptív evolúciójára (1. ábra).





1. ábra. A központi idegrendszer hipotalamusz releasing hormonjainak hatására az adenohipofízisben gonadotropin, ACTH, TSH szekréció megy végbe. Ezek a hormonok a célszervbe jutva a megfelelő hormonok szekrécióját váltják ki. A célszervekben képződött hormonok az agyra visszahatva kiváltják a releasing hormonok szekrécióját.

Fig. 1. Under the influence of the hypothalamus releasing hormones of the central nervous system, gonadotropin, ACTH, TSH secretion takes place in the adenohypophysis. Arriving at the target organ these factors initiate the secretion of hormones. Reacting upon the brain, the hormones developing at the target organs stimulate the secretion of the releasing hormones.

a: feedback mechanizmus hosszú pályája; b: feedback mechanizmus rövid pályája; LHRH = luteotrop hormon releasing hormon; FSHRH = follikulus stimuláló hormon releasing hormon; CRH = corticotrop releasing hormon; TRH = tireotrop releasing hormon; LH = luteotrop hormon; FSH = follikulus stimuláló hormon; GRH = gonadotropin releasing hormon; PRH = prolaktin releasing hormon; MRH = melatonin releasing hormon; GIH = gonadotropin inhibiting hormon; MIH = melatonin inhibiting hormon; GH = gonadotrop hormon; PL = prolaktin; MSH = melanocita stimuláló hormon.

### 3. Adaptív evolúció

A korábban elmondottakból kitűnik, hogy új, addig még nem aktív membrán- vagy citoszol-receptorok funkcióbalépésével — vagyis avval, hogy a hormonnal kapcsolatot létesítettek a környezet és a szervezet között —, egy állandó mozgásban levő dinamikus egyensúly alakulhat ki. Ez a dinamikus egyensúly megnyilvánulhat rövid életű szabályozásban, de lehet öröklődő rögzítettség is.

Ha emlős angiotenzint adnak intraperitoneálisan olyan állatoknak — hüllők, madarak, emlősök —, amelyek egyébként is fogyasztanak vizet, akkor ezek vízigénye fokozódik. A kétéltűeknek van subfornicalis szervük és megtalálható bennük a lamina terminalis organum vasculosum, azonban még sem reagálnak az angiotenzinre fokozott vízigénnyel. Lehetséges, hogy ennek oka az, hogy a dipsogen receptorok, melyek az angiotenzinnel kapcsolatosak, a subfornicalis szervben és az organum vasculosumban később alakulnak ki, amikor végbe megy az amfibiumok evolúciója a reptiliumok felé, vagyis az amfibiumokban még nincsenek jelen. A békák közül pl. a *Rana brevipoda*, a *Rana catesbeiana* és a *Cynops pyrrhogaster ensicauda* fajoknak, ha az angiotenzinből 100  $\mu\text{g}/100$  g testsúly dózist adtak, az állatok vízigénye jelentősen



növekedett. Ennek alapját az a tény képezi, hogy az agyban levő angiotenzin receptorok a környezethez való alkalmazkodással fejlődnek, továbbá, hogy ezek a fajok már közelebb állnak a reptiliumokhoz, a dipsogen receptorok kialakulása tekintetében.

### Az amfibiumok metamorfózisa

A metamorfózison azt a posztembrionális fejlődési szakaszt értjük, amelynek során a lárva egy adott sajátos életszakaszra jellemző formából egy másik, úgynevezett felnőtt — szárazföldi — megjelenési formába megy át. Ez együtt jár az életkörülmények, a biotóp változtatásával is. Az amfibiumok néhány különösen specializálódott fajtól eltekintve életüket szabadon úszó, kizárólag vízi életmódra alkalmas lárvaként kezdik meg. Ezek a lárvák a metamorfózis folyamán jelentős morfogenetikai változásokon mennek keresztül, míg kétéltűekké vagyis szárazföldi-vízi élőlényekké alakulnak. Ez az átalakulás rendkívül érdekes, sajátos folyamat, amely teljes lefolyása alatt az állat más és más — mindenkor sajátosságainak megfelelő — feltételeket igényel a környezettől.

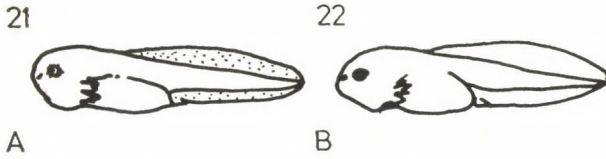
Az amfibiumok közül az anurák specializálódtak a legnagyobb mértékben. Lárváik az úgynevezett ebihalak, általában különböznek a felnőtt egyedtől nemcsak a légzés, a gázcsere lebonyolításában — ami ebihalakban kopolytúval, a felnőtt egyedben tüdővel és a bőrön át történik —, hanem a mozgás formájában, a táplálkozásban, a szenzoros apparátusban stb. is. Ez az a csoport, amelyben a metamorfózis az egész szervezet radikális átalakulásával jár együtt.

A fejlődés természetesen megszakíthatatlan folyamat, azonban annak érdekében, hogy könnyebben összehasonlítható legyen a különböző fajok egyedfejlődése, vagy akár azért, hogy egy fajon belül az egyes egyedek ontogenezisében az eltéréseket, sajátosságokat, egyediséget megfigyelhessük, ezt a folyamatot szakaszokra, ezen belül főbb állomásokra bontjuk fel. A szempontok, amelyek szerint a fő állomásokat megállapítják, „önkéntesnek” is mondhatók. A különböző szerzők más és más tényezőket tartottak alapvetően fontosnak.

Az anurák egyes fejlődési állomását általában a külsőleg is jól megfigyelhető morfológiai változások alapján különítik el. Ilyen jellemző fejlődési állomásnak tartják általában a szájszervek kialakulását, a szaruhártya átlátszóvá válását. Jelentős a metamorfózis elemzése szempontjából a hátsó végtagkezdemény megjelenése, majd a differenciálódott, de kevésbé mozgékony hátsó végtag kialakulása, amikor a femur és a tibia valamint fibula tompaszöveget zárnak be. Kiemelik azt a fejlődési állapotot, mikor a hátsó végtag már jól fejlett, a combosont és lábszárcsont nyugalmi állapotban hegyesszöveget zárnak be. Fontos ontogenetikai állomás az elülső végtagok megjelenése, majd később a fark reszorbciónak különböző szakaszai. Ezek a fejlődési szakaszok magukba foglalják a lárva teljes vízhez kötött élettartamát. GOSNER [31], TAYLOR és KOLLROS [97] megállapításait vette alapul, amikor a vízben szabadon úszó békalárvák legjellemzőbb, legfontosabb fejlődési szakaszait megállapította. A korábban említett szerzők közül elsősorban GOSNER az, aki a legjobban megfigyelhető külső morfológiai bélyegek alapján állapította meg az anurákra jellemző tipikus metamorfotikus bélyegeket, mint az ontogenezis fő lépéseit. GOSNER a farkatlan kétéltűek fejlődését 46 fő szakaszra bontja. Ez magába

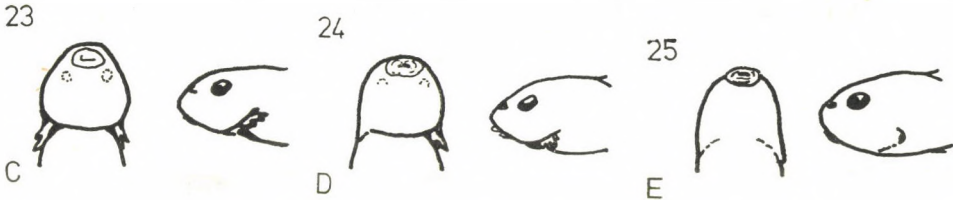


foglalja az egész embriogenezist, beleértve a metamorfózist is. Más kutatók, így TAYLOR és KOLLROS a végtagok megjelenése és a farok reszorbcíója alapján foglalkoznak a metamorfózissal (2. és 3. ábra).

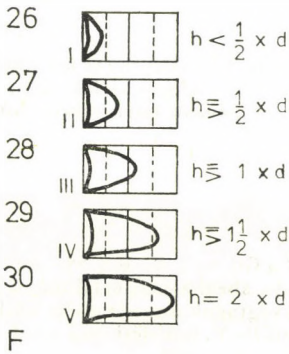


21 A a cornea átlátszóvá lesz

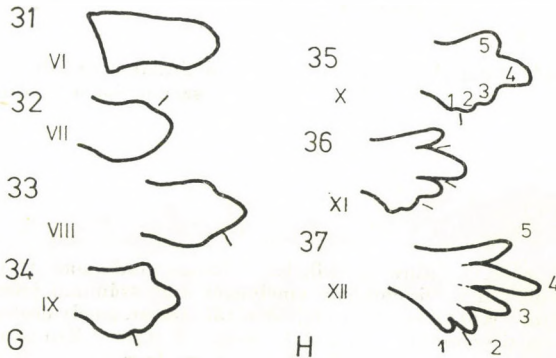
22 B a farok úszó átlátszó és a farok csúcsban is vannak véretek



23 C az operkulum kialakulása (23—25)



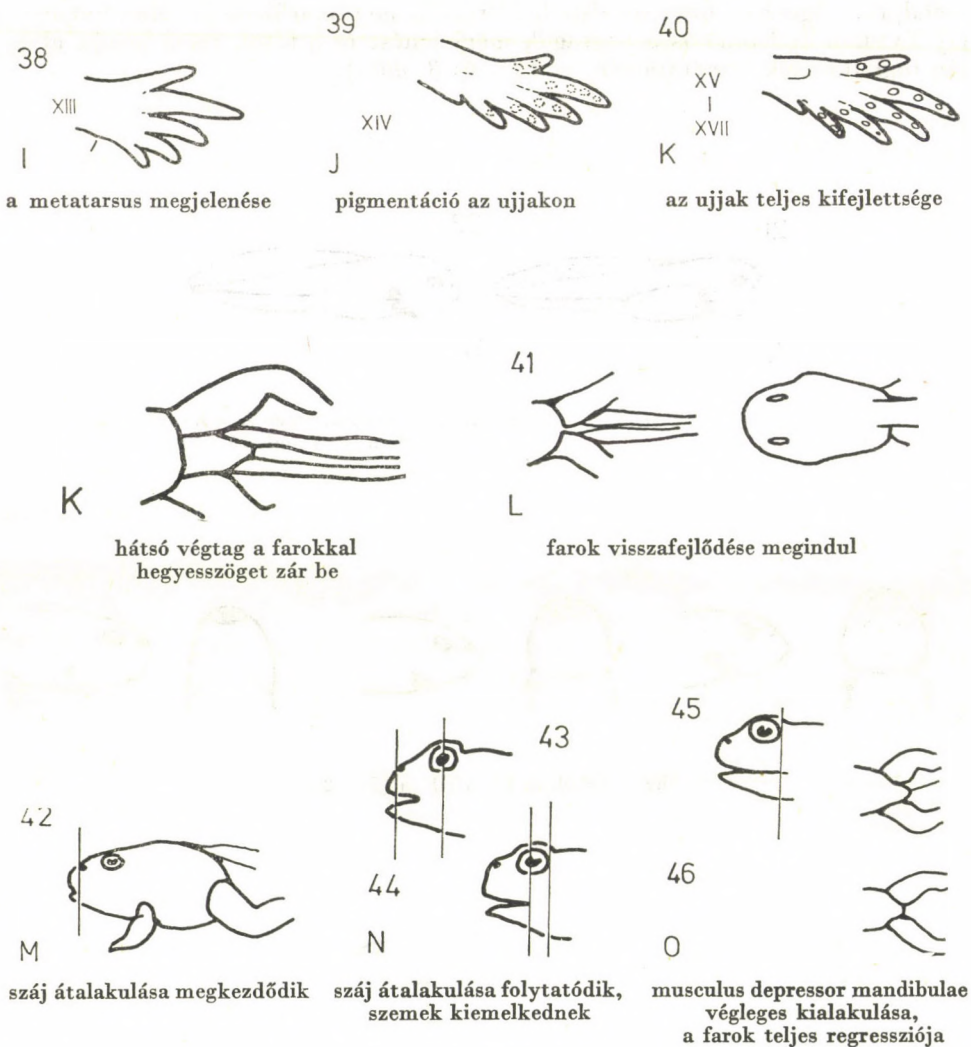
a végtag bimbó megjelenése (26—30)  
d = diameter (átmérő), h = hosszúság



az ujjak kialakulása (31—37)

2. ábra. Az anurák fejlődési stádiumai (GOSNER szerint)





2. ábra. Az ábra az ebihalak fejlődési stádiumait tünteti fel a GOSNER szerinti 21–46 tartó fejlődési stádiumokban, amelyeket arab számmal jeleztünk. Az ábrába belefoglaltuk a TAYLOR–KOLLROS szerinti fejlődési táblázatot, amely elsősorban a végtagok megjelenésére utal, ezt római számokkal jeleztük I–V-ig. A TAYLOR–KOLLROS szerinti I–V. fejlődési szakaszok megfelelnek a GOSNER szerinti 26–30 fejlődési szakasznak.

Fig. 2. Tadpoles' developmental stages according to the 21–46 developmental stages of GOSNER, are marked with Arabian numbers. The figure contains the TAYLOR–KOLLROS developmental tabulation which refers first of all to the appearance of the limbs (marked with Roman numbers from I to V.) The TAYLOR–KOLLROS stages of I–V correspond to those GOSNER's 26–30 developmental stages.

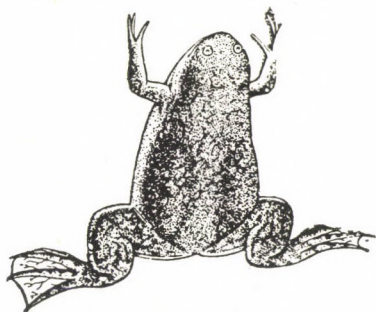




BUFO VIRIDIS



PIPA PIPA



XENOPUS LAEVIS



RANA ESCULENTA

3. ábra. A ábrán a szövegben említett néhány békafaj felnőtt példányai láthatók (a rajz nem méretarányos).

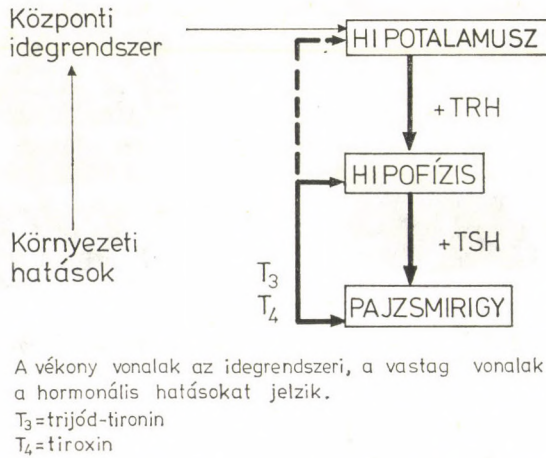
Fig. 3. Some adult frogs mentioned in the text. The sketch is not in proportion with the original sizes

### 1. A pajzsmirigy és a metamorfózis

A hipofízis-pajzsmirigy tengely központi szerepe a kétéltűek metamorfózisának szabályozásában ismert, a témával kapcsolatos vizsgálatok különösen az utóbbi 30 évben igen szélesen kiterjedtek. Jelen munkánkban elsősorban az alábbi, általunk önkényesen kiválasztott, legfontosabbnak tartott két szempont alapján foglalkozunk az amfibiumok metamorfózisa és a pajzsmirigy közötti kapcsolat problémájával: 1. A pajzsmirigy-hormonok és -hormon prekursorok által okozott morfogenetikus változások a különböző szövetekben; 2. A pajzsmirigy hormon szekrécióját szabályozó TSH szerepe az amfibiumok metamorfózisában (4. ábra). A metamorfózisban a tiroxinon kívül prekursorai azonos jelentőségű, — sőt esetenként még a tiroxinnál is jelentősebb — szerepet kapnak. Ez utóbbinak magyarázata az, hogy a tiroxin prekursorok lényegesen kisebb koncentrációban ugyanazt vagy még jelentősebb morfogenetikus hatást érnek el (lásd: „A tiroxin prekursorok morfogenetikus hatása” c. fejezetet, 69. o.).

Nem hanyagolható el egyáltalában az a tény, hogy a tiroxin hatását más hormonok, így elsősorban a szteroid típusú hormonok jelentősen befolyásolják.





4. ábra. Környezeti hatások révén, mint pl. a hideghatás, fokozódik a tiroxin szekréció. A külső hatások a központi idegrendszeren keresztül a hipotalamusz neuroszekréciós sejtjeihez jutnak. A neuroszekréciós sejtek fokozzák a TRH termelését. A TRH az eminentia medianából az adenohipofízisbe kerül és ott fokozza a TSH szekréciót, ez pedig fokozott pajzsmirigy tevékenységhez vezet.

Fig. 4. By the influence of the surroundings — for example by the effect of cold — thyroxine secretion is stimulated. The external influences reach the neurosecretory cells of hypothalamus through the central nervous system. The neurosecretory cells increase the production of the TRH. The TRH gets from the eminentia mediana into the adenohypophysis where it increases the TSH secretion and this leads to the stimulation of the activity of the thyroid gland.

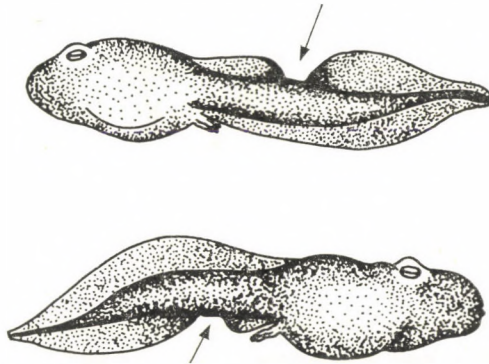
## 2. A tiroxin szekréció a normál metamorfózisban

A legkorábbi vizsgálatok szerint az ebihalakban a pajzsmirigy a metamorfózis idejére aktiválódik. Az aktiválódás jele a pajzsmirigy folliculusokban a kolloidállomány vakuolizálódása. Az anurákban a premetamorfózis szakaszában a pajzsmirigy kicsi, igen kevés sejtből áll és a szövettani bélyegek alapján inaktív. A premetamorfózisban a testsúllyal párhuzamosan a pajzsmirigy súlya is nő, mind abszolút, mind pedig a testsúlyhoz viszonyított értelemben. A metamorfózis csúcspontja — klímaza — idejére a mirigy nagy, a hám ilyenkor a legmagasabb, a kolloid anyag vakuolizációja kiterjedt. A metamorfózis klímaza végére a pajzsmirigy ismét inaktív, a folliculusok hámlása ellaposodott és a folliculus üregét kitöltő kolloid sűrű acidofil. SAXEN [90], KAYE [50], valamint NIAZI [74] radioizotópos és más jellegű vizsgálataikkal megerősítik, hogy az ebihalakban a pajzsmirigy maximális aktivitását a metamorfózis klímaza idején éri el. Ebben az időszakban a metamorfózissal együtt jár az anyagcsere-átállítása is. Az ebihalak  $NH_4$ -t választanak ki, és a nitrogén anyagcsere végtermékeként karbamidot termelnek. A metamorfózis során kialakult a karbamid ciklus minden enzime, és bizonyított, hogy ezek képződését a tiroxin indukálja.



### 3. Az ebihalon megfigyelhető külső változások

A metamorfózis folyamatában a sejtek és szövetek reorganizációja is végbemegy, többek között a lárvára jellemző bőr átalakulása felnőtt formába. A tiroxin tartalmú kis golyócskák beültetése után a bőr fokozatos átrendeződését figyelték meg. Az Urodela lárva kültakarójában eltűnnek a Leydig sejtek, a bőr átrétegződik. Anura lárvákban, a szubkután implantátumok hatására hasonló reakciókat, és további dermális változásokat, mirigyek fejlődését, bőr-redők képződését és érett pigmentsejtek megjelenését észlelték. Felnőtt, pajzsmirigyirtott állatokban, melyekbe tiroxin-koleszterin implantátumot vittek be [8] voltak olyan lokalizáltan kimutatható területek, ahol az epidermis leépülése ment végbe (5. ábra). Normál és tiroxinnal indukált metamorfózis hatása



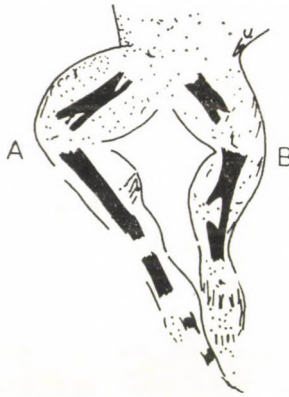
5. ábra Az ebihal sémás rajza oldalnézetben. A nyíllal jelölt helyen látható, hogy a tiroxin-koleszterin implantátumok helyén a farokúszó végeinek szőle a dorsalis és a ventralis oldalon egyaránt felszívódik.

Fig. 5. Schematic side view of the tadpole. On the sites of the thyroxine-cholesterol implantates (indicated by arrow) the end of the tail-fin becomes adsorbed equally on the dorsal and on the lateral sides

egyes szervekben különösen jól regisztrálható, ilyenek pl. a szem és járulékos részeinek növekedése, az első és hátsó végtagok fejlődése, stb. Különösen fontos a mitózis gyakoriság jelentős növekedése, ami elsősorban a transzformálódott képletekre jellemző. Pl. ha a szem és az orbitális régió változását megelőzi az intraokuláris tiroxin-koleszterin implantáció, akkor ennek eredményeként jelentős különbség mutatkozik a kezelt és kontroll állatok között. A kezelés hatására a fejlődés, az átalakulás felgyorsul. Ezt a pozitív különbséget a tiroxinnak a célszervre gyakorolt direkt hatása okozza, nem pedig más hormonokon keresztül kifejtett hatás. Egyes szemrészleteket kiemeltek, és *in vitro* izolálva tartottak, úgy vizsgálták a tiroxin hatását. Mivel a lárvális elülső végtagbimbók (kezdemények) nemcsak kicsik, hanem a kopoltyúk mentén az operkulummal kamrába zártak, alkalmasak arra, hogy oda kis golyócskákat implantáljunk. A *Xenopus* lárva fejlődése során is hasonló a helyzet. Mind-egyik végtagkezdemény a hátulsó kopoltyúlemez mögötti kis kamrácskában fejlődik. Ha egy tiroxin golyócskát ebbe a kamrába helyeznek, ennek eredményeként e kamrácska és a végtagkezdemény is megnagyobbodik, a különbséget jól mutatja kontrollként a másik oldali végtagkezdemény. Ez azt jelenti, hogy a végtagbimbó növekedését nem a degenerálódó kopoltyú sti-

mulálja, amint azt a korábbiakban feltételezték [6], hanem ez valóban a hormon közvetlen hatásának eredménye.

Az implantáció legeredményesebb az Urodela és Anura lárvák hátsó végtagbimbója korai fejlődési szakaszában. A végtagváz csontosodását izotóppal vizsgálva, majd a kísérleti és kontroll végtagokat összehasonlítva kifejezett diszharmónia látható, ez magától érthetődővé teszi a tiroxin direkt hatását a végtagra (6. ábra) [43, 48, 64]. A szájszervek kialakulását a tiroxin-



6. ábra. A tiroxin-koleszterin implantátum és a koleszterin (kontroll) hatásának sémás rajza. Az ebial hátsó végtagjain a ventrális oldalról tekintve látható a két lábszár, illetve a lábszár csontok. Az A-val jelzett oldal a tiroxin-koleszterin implantáció utáni állapotot mutatja, a B-vel jelzett oldal a kontrollt, ahová csak koleszterin implantáció történt. A tiroxin-koleszterin kezelt oldalon a femur, a tibia-fibula és a tarsalis csontok hosszabbak, mint a kontroll oldalon, ahol a koleszterin implantáció történt. Tehát a tiroxin metamorfózist serkentő hatása lokálisan is kimutatható (KALTENBACH után).

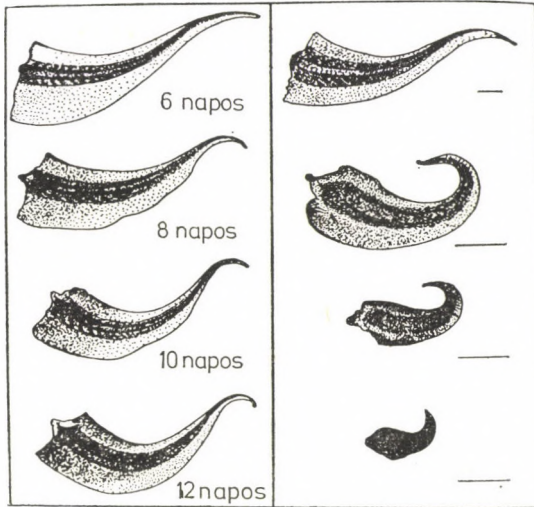
Fig. 6. Schematic drawing on the effect of thyroxine-cholesterol implant and of the cholesterol control. Looking from the ventral side the posterior limbs of the tadpole, the two legs i.e. the tibia can be seen. The side marked with A shows the conditions after the thyroxine-cholesterol implantation. The side marked with B is the control where only the cholesterol implantation took place. On the thyroxine-cholesterol treated side the femur, the tibia-fibula and the tarsal bones are longer than those on the control side where the cholesterol implantation took place, consequently the metamorphosis stimulating effect of thyroxine can also be proved locally (KALTENBACH).

koleszterin, valamint kontroll koleszterin golyócskák beültetésével kísérletesen befolyásolták. Több és egymással ellentétes elmélet van arra vonatkozóan, hogy mi az oka az operkulum fal elvékonyodásának és átszakadásának, ami lehetővé teszi az elülső végtag megjelenését. Van olyan elképzelés, mely szerint a degenerálódó kopolyú lemezek hisztolitikus hatása váltja ki az operkulum átszakadását. A degenerációhoz hozzájárulnak még: az elülső végtag bőrében levő mirigyek szekréta, endokrin hatások, az operkulumban a vérellátás csökkenése, mely az aortaívek degenerációjához vezet. A tiroxin golyócskák beültetése az operkulum mellé, olyan eredményeket adott, melyek alapján levonható a következtetés, miszerint a degenerálódás közvetlen hormonhatásra ment végre [43, 44, 45].

Az Urodela és Anura lárvák farokuszonyaiba hormontartalmú golyócskát implantálva az implantáció területén a farok reszorpcióját figyelték meg



[43, 44, 45]. Ezt a jelenséget analizálva megállapították, hogy az ok, a fark izomzat atrófiája, vérellátásának megváltozása, az itt található idegek degenerációja és a pH általános csökkenése [47, 87, 88]. Ezek az eredmények mind a tiroxin direkt hatását bizonyították [43, 44, 45]. Mindezek a külsőleg megfigyelhető változások, a végtagok növekedése, fark felszívódás stb. arra engednek következtetni, hogy a tiroxin speciális célszervre fejt ki hatását (7. ábra).



7. ábra. Izolált *Xenopus l.* fark *in vitro* körülmények között. Baloldal: kontroll, jobboldal: kísérleti, trijód-tironinnal kezelt és a kezelés hatására megrövidült farkak.

Fig. 7. Isolated *Xenopus* tadpole tail *in vitro*. Left side: control, right side: triiodothyronine treated experimental tails which are shortened.

#### 4. Belső morfológiai változások

A metamorfózis során a központi idegrendszer sejtjeinek differenciált aktivitása figyelhető meg. A béka lárva agya és a gerincvelő igen kis terjedelmű, nagyon nehéz a speciális neuron választ elkülöníteni. Az implantátumból kidiffundáló hormon alkalmas arra, hogy nem csak az agy közeli területeit érje el, hanem eléri az ellentétes oldalt is. Azonban mégis a gondosan megválasztott és folyamatosan ellenőrzött hormonkoncentráció, valamint a golyócskák pontosan lokalizált elhelyezése eredményeként az agy és a gerincvelő a pajzsmirigyhormonra direkt reagálnak.

Az Anura lárvákban a cornea reflex, a szemgolyók visszahúzódása a metamorfózis utolsó szakaszában, a klimaxban jelennek meg. Az ilyen válasz kiváltása az állat számára teljesen fiziológias. Meg kell jegyezni, hogy a reflex megjelenésének ideje függ a hátsóagyban levő reflexközpont érettségétől. Azért, hogy meghatározzák, hogy ez a reflexközpont vajon közvetlen hormonális kontroll alatt áll-e, tiroxint ültettek be a velőállomány területére. Ilyen kezelés erőteljesebb reflexet vált ki, mint a metamorfózis során az egyébként jelentkeznék, másrésről a medullához tartozó testfélén a reflex korábbi meg-



jelenését váltja ki, mint az az ellenkező testfélen megfigyelhető. Tehát a cornea reflex-szel, mint az érettség kritériumával, vagy a medulla reflex központjába történő beavatkozással lehetséges volt a tiroxinnak a speciális agyközponttra kifejtett lokalizált hatását bizonyítani.

A tiroxinnak a középgagyba történt implantációjával kapcsolatos megfigyelések igazolják a feltételezést, miszerint bizonyos morfológiai változások az agyban tiroxin hatására jelennek meg. A mesencephalon *V*-sejtjeinek perikarionja tiroxin hatására szignifikánsan nagyobb lett. A perikarion megnagyobbodásának mértéke attól függött, hogy ez milyen távolságban volt a hormon implantátumtól [56]. Az ebihalban más régiók is, például az állkapocs-visszahúzó izom (musculus depressor mandibulae), ahová szintén a *V*-magvakkból mennek a proprioceptív rostok, csak gyengén stimuláltak voltak. Utalások vannak arra vonatkozóan, hogy ezeknek a részben szenzoros sejteknek a növekedését a tiroxin közvetlen hatása fokozza, függetlenül az őket a periferiáról ért befolyásoktól. A mesencephalonban található *V*-sejtek nagyságbeli csökkenését figyelték meg a hormonhatás megszüntetése után tioureával történő kezeléskor, amikor is gátolt a jódt beépülése a tirozinba. Ezeknek a lárvális *V*-sejteknek a nagyságát csak úgy lehetett fenntartani, ha biztosították a tiroxin állandó jelenlétét is. Ilyen körülmények azonban nem várhatók, mivel „semilyen metamorfotikus elváltozás nem lehet reverzibilis” [56].

A serkentő, lokális hormonhatás másik jele volt a neuronok és az ependyma sejtek mitotikus aktivitásának fokozódása a pajzsmirigy implantációhoz közeli területen [9]. Ugyanakkor a tiroxin implantátum közelében az *M* (Mauthner)-sejtek kisebbek lettek. Az *M*-sejtek a törzs mozgásával és a farok normális felszívódásával vannak kapcsolatban. Vannak ennek ellenkezőjét bizonyító kísérletek is. Az *M*-sejtek megnagyobbodását tapasztalták a tiroxinban tartott állatokban, míg a pajzsmirigyirtott ebihalakban az *M*-sejtek mind kisebbek lettek [77, 78]. Az *M*-sejtek hormonális kontrollja analóg a mesencephalon *V*-sejtjeinek hormonális kontrolljával, vagyis növekedésüket a tiroxin közvetlenül fokozza, a sejtek nagysága függ a tiroxin jelenlététől míg regressziójuk a hormon elvonásával kapcsolatos.

A motoros neuronok hormonális kontrollja csak részben érdekes, mivel ezeknek a neuronoknak száma és nagysága a perifériáról jövő terheléstől függően változhat. Amikor tiroxint implantáltak az ebihal végtag bimbójába, az idő előtti növekedést a laterálisan elhelyezkedő motoros neuronok számának növekedése kísérte, mintegy illusztrálva a tiroxinnak a motoros neuronokra gyakorolt közvetett hatását. A tiroxinnak a lumbo-sacralis régió egyik oldalára történő implantációja közvetlenül stimulálja azon az oldalon a motoros neuronok megnagyobbodását. Ilyen vizsgálatok arra utalnak, hogy a tiroxin az ebihalakban mind közvetlenül, mind közvetve hatást gyakorol egyes motoros neuronok nagyságára.

Az emésztőrendszerben is jelentős változások történnek a metamorfózis során. A legfigyelemreméltóbb, hogy a lárvában megrövidül a feltekeredett bélesatorna és fala is elvékonyodik [23]. A tiroxin direkt hatása következtében a folyamat jelentősen meggyorsul annak ellenére, hogy a tiroxin lokális hatását nehéz körülhatárolni. Vannak adatok arra vonatkozóan, hogy a beültetett tiroxin golyócskák a duodenum területén lokalizálható metamorfotikus változásokat produkálnak. LIPSON az ebihal elülső szemesarnokában kilenc napig tenyésztette az oda beültetett béldarabot. Az egyik szembe implantált béldarabba helyezett tiroxin golyó metamorfotikus változásokat okozott a bél-







## 6. Szövettenyésztési módszer a metamorfózis vizsgálatára

Másik módszer, amellyel a tiroxin lokális biokémiai és morfogenetikus hatását — *in vitro* — vizsgálni lehet: az izolált szervek szövettenyészetben történő vizsgálata.

**Morfológiai változások.** Először 1859-ben VULPIAN tenyésztette az ebihalak izolált farkát, módszere feledésbe ment, és 1962-ben HAUSER és LEHMANN alkalmazták VULPIAN metodikáját a farkok regeneráció vizsgálatára [39].

A tiroxin [105, 106] és a trijód-tironin [91, 96] amit a táptalajhoz adtak drámai változásokat idézett elő a tenyésztett ebihal farkakon, azok megrövidültek. Ilyen formában bizonyítható volt a pajzsmirigy-hormonok direkt hatása a metamorfózisban sorozatosan végbemenő morfológiai változásokra (7. ábra).

A farkok tenyészetet modellként használták a pajzsmirigy-hormonok metamorfotikus hatásának biokémiai vizsgálatára. Az izolált farkok megrövidülését nem csak a fehérje tartalom farkokra vonatkoztatott mennyiségének csökkenése követte, hanem a teljes nitrogén mennyiség csökkenése is [26, 38, 106]. Azonban a hidrolitikus enzimek — nevezetesen a katepszin, a savanyú foszfatáz és a ribonukleáz — aktivitása protein egységre vonatkoztatva nőtt [95, 106]. Vannak adatok a borostyánkősav-dehidrogenáz és tejsav-dehidrogenáz a ktivitását illetően is [49, 89, 104, 108]. A metamorfózis alatt levágott, *in vitro* tartott farkokban a jelzett uridinnel és a jelzett aminosavakkal végzett kísérletek azt mutatták, hogy az RNS- és a fehérjeszintézis fokozódott. Amikor a médiumhoz olyan komponenseket adtak, amelyek blokkolták ezt a szintetikus aktivitást — aktinomycin D, puromicin és cikloheximid —, akkor ez egyúttal a farkok reszorbcio prevencióját jelentette [73, 96]. Ezek a vizsgálatok feltételezni engedik, hogy az RNS- és a fehérjeszintézis szoros kapcsolatban vannak a farkok regresszióval, és a hidrolitikus enzimaktivitás növekedése szükségessé teszi új hidrolitikus enzim molekulák szintézisét.

A farkocsúcsból készített szövettenyészetek lehetővé teszik a tiroxin és dinitrofenol (ez utóbbi az oxidatív foszforilációt gátolja) hatásának összehasonlítását a hisztolízisre és a szövetlégzésre [40]. A szövettenyészetekben miután a tenyésztőfolyadékhoz hozzáadták a tiroxint, három nap múlva az oxigén fogyasztás szignifikáns növekedését észlelték, ellentétben a dinitrofenol hatásával, amely a hozzáadás után két órával átmeneti növekedést eredményezett. Az említett kísérletek eredményeként HEINEMANN és WEBER [40] szerint „inkább elképzelhető az, hogy a genomból bioszintetikus úton messenger szabadul fel, mint hogy a metabolizmus energiájában változik”.

GROSS és LAPIERE [32] valamint SILBERT [92] annak érdekében, hogy a farkocsúcsban a kötőszövet reszorbciojának mechanizmusát felderítsék, sajátosan elkészített szövettenyészeteket használtak. A farkocsúcsokat kollagenolitikus, illetve hialuronidáz aktivitással rendelkező közegben tartották. A farkocsúcsok hám és kötőszöveti komponenseit izoláltan tenyésztették, meghatározták a puromicin hatását az enzimaktivitásra, s kimutatták, hogy a hám komponens felelős lehet a kollagenáz produkcióért és hogy a kötőszöveti elemek a hialuronidázt szabadítják fel. Tehát a kötőszövet két legfontosabb sejt közötti alkotó eleme a kollagén rostok és az alapállomány különböző sejtek által előállított enzimek állandó támadása alatt állnak. Arrá nézve, hogy a tiroxin mi a szerepe ebben a rendszerben, nincsenek adatok.



Különböző lárvális szervek és szövetek tenyésztésével további kísérletekben a tiroxin metamorfotikus és organizációs hatását vizsgálták. Az egyes tenyészetekben az explantátumok fenntartására, illetve növesztésére sóoldatokat és folyékony táptalajt is használtak.

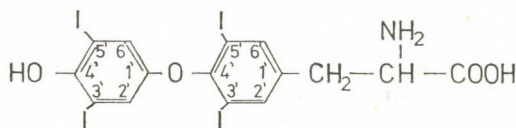
Tenyésztették Urodela lárva hasnyálmirigyét [25] Xenopus lárva bőrét [101], valamint szerv-tenyészetként egész szívet is. Dúsított táptalajt alkalmaztak, különböző kultivációs időkkel dolgoztak; a leghosszabb tenyésztési idő három hét volt. Így próbálták eszközt adni ahhoz, hogy a tiroxin és a tiroxin analógok hatásáról képet kapjanak az említett szervek vonatkozásában.

Mindezek a kísérleti adatok világosan mutatják, hogy a pajzsmirigy hormonok direkt hatással vannak a perifériás szövetekre, meggyorsítják azok metamorfotikus változásait morfológiai és biokémiai vonatkozásban is. Elismert, hogy a metamorfotizáló szervek közvetlenül a tiroxin hatása alatt állnak; további lépés, annak a mechanizmusnak alapjait feltárni, amelyben a hormon a metamorfózisra gyakorolt serkentő hatását kifejti.

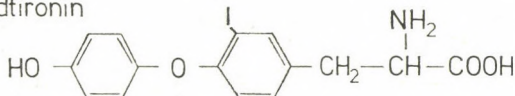
### 7. A tiroxin prekurzorok morfogenetikus hatása

A tiroxin prekurzorok hatásának vizsgálatát természetesen megelőzte a tiroxinnek és hatásmechanizmusának megismerése. A tiroxin izolálása majd szintézise nyitotta meg az utat a tiroxin prekurzorok vizsgálatához is. GROSS és PITT-RIVERS [33] fedezték fel a 3,5,3'-trijódtironint, megállapították, hogy emlősökben [34] és ebihalakban [84] sokkal nagyobb az aktivitása, mint a tiroxinnek [57, 99].

Tiroxin



Trijódtironin



A pajzsmirigy hormonok alatt a TSH-val serkentett a pajzsmirigy follikuláris sejtjeiben termelődő hormonokat értjük. A tiroxin mellett — ami a pajzsmirigyben specifikus fehérjéhez a tireoglobulinhoz kötött állapotban raktározódik — a már említett tiroxin prekurzoron, a trijódtironinon kívül az ugyancsak prekurzor dijódtironin is jelen van. A prekurzorok hatásának vizsgálatakor különösen tekintettel kell lenni a dózis hatására. Pontosabban értékelhető hatást lehet elérni abban az esetben, ha a prekurzorokat intraperitoneálisan adjuk az állatoknak [27, 28]. A tiroxin prekurzorai kisebb koncentrációban hatásosak, mint a tiroxin. Ez a jelenség a receptor mintázattal magyarázható: lehet, hogy a fiatal állatok — az ebihalak — receptorai alkalmasabbak a tiroxin prekurzorokkal történő kapcsolatra, mint a tiroxinnal való kötésre.



Több szerző is megerősíti, hogy az ebihalak metamorfózisának kísérletes befolyásolásakor prekursorokban, vagy akár a tiroxinban való úsztatás kevésbé megnyugtató eredményeket ad, mint az injekció [59, 60, 114].

Meg kell említeni a tiroxin prekursorok mellett a tiroxin analógok metamorfotikus hatását; ezek közül elsősorban a 3-izopropil-3,5-dijódtironin az aktív [48, 67, 68, 69, 71]. A célszervek szelekciója a tiroxin analógokkal szemben nem észlelhető [67—70].

### 8. A célszervek tiroxin érzékenysége

A célszervek válasza specifikus, a tiroxinra közvetlenül és önállóan reagálnak. Ezen kívül a válasz minden esetben igen sajátos, így pl. Anurákban a hátsó végtag tiroxin hatására növekszik, míg ugyanabban a fajban a tiroxin a farok reszorbcioját váltja ki. Az is egyértelmű, hogy a specifikus válasz független attól, hogy milyen szövettípus vesz részt a reakcióban. Míg a fejlődő végtagban, nyelvben a harántcsíkolt izomrostok megnyúlása tapasztalható, ugyanez a szövet a farok régióban reszorbeálódik. Elképzelhető, hogy a részvevő szövetek válasza nem azonos az összes amfibiumban, de magától értetődő, hogy a harántcsíkolt izom teljesen eltérő módon reagál az Anura és az Urodela lárvák farkában. Az utóbbiakban a farok nem rövidül és megmarad érett korban is.

KOLLROS [59] igen kis koncentrációjú tiroxinban tartott ebihalakat és az operkulumot borító bőr perforációjának lelassulását tapasztalta. Ugyanilyen körülmények között az azonos fejlődési stádiumban viszont a farok reszorbcioja során az azt borító bőr hisztolízisét írták le. Az Anurákban a metamorfózis kezdete egybeesik az operkulum kialakulásával, ez pedig jóval az előtt történik, hogy az ebihal saját pajzsmirigye mérhető hormonszekréciós tevékenységet végezne. Felmerül a kérdés, hogy az állatok minden része egyformán érzékeny-e a tiroxinra, vagy pedig e különböző szervek érzékenységében különbség van. ETKIN [18] szerint az érzékenység a különböző szövetekben azonos időben jelentkezik. Más szerzők szerint a különböző szervek hormonérzékenysége különböző időben jelentkezik, pl. a farok hormon érzékenysége nyolc órával megelőzi a végtagok hormon érzékenységét [112, 113]. KOLLROS és McMURRAY [62] kimutatták, hogy a középagy V-sejtjeinek érzékenysége még később jelentkezik. Ezek a sejtek a tiroxinra a III.-IV. lárvális stádiumban (TAYLOR—KOLLROS szerint) reagálnak, azonban ez az érzékenység még az V. stádiumban sem teljes, hanem tovább fokozódik. ETKIN [21] kimutatta, hogy az eminentia mediana a lárvális stádiumokban egyáltalán nem reagál tiroxinra. Ez a nyilvánvaló ellentét arra utal, hogy a különböző szövetek hormonérzékenységében az Anurák esetében is jelentős különbség van.

A hormonhatás vizsgálatában rendkívül nagy jelentősége van: 1. az alkalmazott hormon mennyiségének, 2. a hormonfelvétel, illetve a kezelés módjának, 3. a hormonhatás időtartamának. VERMA adatai szerint a bőrmirigyek állandó hormonhatás mellett is regionális specificitást mutatnak [102].

A szöveti transzplantátumok pontosabb felvilágosítást adnak az embrionális szervezet különböző régióinak reagálásáról. Megállapítható, hogy különbség van a szövetek aktív és inaktív állapota között. Arra a kérdésre, hogy az egyes szövetek milyen hormonérzékenységgel rendelkeznek, csak akkor lehet választ adni, ha ismerjük a mechanizmust, amelyen keresztül a tiroxin kifejti hatását. Fontos szerepe van továbbá a kérdés megoldásában annak is, hogy



milyen sejt-szervecskék és biokémiai mechanizmusok vesznek részt a hatás érvényesülésében.

*Az érzékenységi küszöb.* Nem csak arról van szó, hogy a különböző struktúrák hormonérzékenysége különböző időben jelentkezik, de ennek az érzékenységek a mértéke is szövetenként, struktúránként változó. Azok a képletek, amelyek a metamorfózisba korábban kapcsolódnak be, érzékenyebbek. Feltehető, hogy minden célszervnek megvan a küszöbértéke. ETKIN kiterjedt vizsgálatai alapján megállapítható, hogy egy adott hormonkoncentráció korai szakaszban stimulálhat rövid ideig, azonban ugyanezt a hormonkoncentrációt alkalmazva másik állatban, későbbi fejlődési szakaszban hosszabb ideig tartó serkentő hatást észleltek [17, 19, 20].

A nagyon hosszú ideig — akár egy évig — alkalmazott hormonok hatásának eredményeként megállapítható, hogy a különböző szövetekre jellemző a küszöbérték. Ilyen kis dózísú elnyújtott szteroid hormonnal történt kezelés a metamorfózis sebességét csökkenti, idejét megnyújtja. Ez a küszöbérték az egyes szervek esetében progresszíven növekedhet. Pl. a hátsó végtag differenciálódása során kis hormonkoncentrációt hosszú ideig alkalmazva csak három ujj fejlődik ki, majd a koncentrációt növelve lehet elérni az öt ujj kifejlődését [58, 59].

Az újabb vizsgálatok igyekeznek tisztázni az egyes szervek tiroxin érzékenységének mértékére utaló ultrastrukturális és biokémiai különbségeket. Fontos a tiroxin hatásmechanizmusának ismerete, mert ennek alapján lehet a szövetek érzékenységének fiziológiai alapjait magyarázni.

*A hormonválasz mértéke* az egyes célszervekben nem csak a szerv saját érzékenységétől függ, hanem az alkalmazott tiroxinkoncentráció hatásosságától is [17, 59]. Általában szólva a metamorfózis mértékéről, a korai metamorfózis kevésbé gyors és látványos folyamatokkal jár, mint a késői; pl. a lábak, lábkezdemények kevésbé gyorsan reagálnak a hormonhatásra, mint a farok, ami viszonylag a legérzékenyebb struktúra. Egyáltalán nem elhanyagolható tény, hogy ennek a sajátos reakció különbségnek az alapja az alkalmazott hormon koncentrációja. Előfordul, hogy a hormonhatás mértéke a hormonkoncentrációval nem egyenesen, hanem fordítottan arányos. Továbbá ahhoz, hogy egy szerv metamorfózisa gyorsuljon, nem mindig szükséges a hormon koncentráció növelése, mivel az egyes szervek érzékenységének tendenciája nem azonos; pl. amikor a farok reszorbcioja megkezdődik, akkor indul meg a végtagok fejlődése. Ezért a tiroxin által indukált metamorfózis analizálásánál figyelmet kell szentelni arra a feltételre, ami mellett a metamorfózis progresszív módon nő [53].

A kísérletekben alkalmazott tiroxinkoncentráció fontosságára már utaltunk. A kis hormonkoncentráció alkalmazásakor lassan mennek a metamorfotikus folyamatok, azonban a morfogenetikus hatás nem csökken. Az alacsony küszöbértékű struktúrákat kis koncentrációval könnyebb stimulálni, míg a magas küszöbértékűekben nagy koncentrációval lehet optimális hatást elérni. Fontos tudni, hogy a késői metamorfózisban alkalmazott kezelés következtében gyakran torz embriók fejlődnek. Nem lehet elérni a metamorfózis változását egyetlen hormonkezeléssel; a metamorfózis szakaszainak megfelelően a koncentrációt mindig változtatni kell [17, 19, 20]. ETKIN vizsgálta az ebihalak pajzsmirigyének szerkezetét [17, 20]; ezeknek a vizsgálatoknak alapján megállapítható, hogy a pajzsmirigy aktivitása fokozatosan nő, és legintenzívebb a metamorfózis tetőpontja idején. Erre az időre a folliculusokban a köbhám

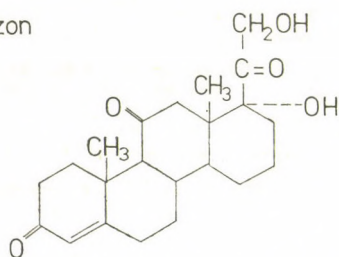
hengeressé alakul, a kolloid vakuolizált lesz, ez pedig a hormonszekréció jele. Más szerkezetű az inaktív pajzsmirigy, melynek hámla magas köbhám, a kolloid pedig homogén, nem vakuolizált masszaként jelenik meg.

### A metamorfotikus választ befolyásoló tényezők

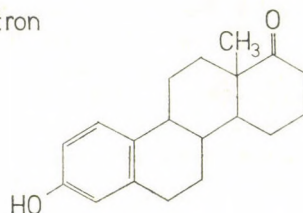
Elsősorban a prolaktin, a szteroid hormonok, a szervezetet felépítő szövetek tömörsége, a táplálék és a hőmérséklet azok a tényezők, amelyek a metamorfózist elsősorban befolyásolják és szabályozzák [67, 75].

A szteroid hormonok gyakran módosítják a tiroxin által indukált metamorfózist. A szteroidok az egyetlen hormonsoport, amelyet ha a fiatal embriókba adnak, akkor nem gyorsítják a metamorfózist, hanem vagy hatástalanok, vagy leállítják, illetve felfüggesztik a fejlődési folyamatot [53]. Megállapították, hogy késői metamorfózisban levő ebihalakban [54], amelyeknek ontogenezisét dezoxikortikoszteronacetáttal (DOCA) serkentették, viszonylag nagy mennyiségű endogén tiroxint lehet kimutatni. Vannak adatok, melyek szerint egyes szteroidok ha tiroxinnal együtt alkalmazzák őket, megkönnyítik annak a metamorfózist serkentő hatását; ilyenek pl. a dezoxikortikoszteron [30, 53], a glikokortikoidok közül a kortizon és a hidrokortizon, az ösztrogén hormonok közül az ösztron és a stilbösztrol [29]. Ugyanezek a szteroid hormo-

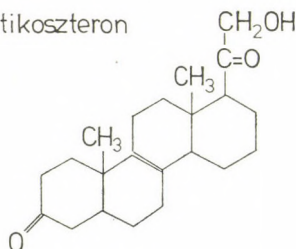
Kortizon



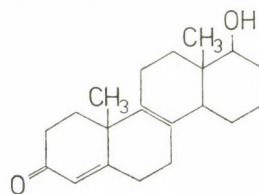
Ösztron



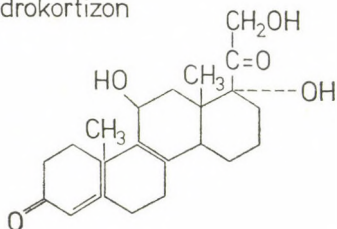
Dezoxikortikoszteron



Tesztoszteron



Hidrokortizon





nek fokozzák a degenerációs jellegű változásokat is. Számos olyan irodalmi adat van, amely szerint az előbb említett hormonok a dezoxikortikoszteron, az ösztrogének [83], a progeszteron alkalmazása mellett a tiroxin nem volt hatásos a metamorfózisra [29]. Csökkentették a tiroxin hatását a metamorfózisra gyakorolt hatását: a kortizon [14], prednizolon [71], tesztoszteron [29, 83]. Az egyes kísérleti eredmények, illetve a szerzők közötti „ellentmondás” oka az, hogy mind a tiroxin, mind pedig a szteroid hormonok esetében különböző hormonkoncentrációkkal dolgoztak. Nagyon körültekintően kell megválasztani a hormonbeadás módját, a kísérletben alkalmazott amfibium fajt, és a kezelésre, illetve az eredmény szempontjából legoptimálisabb fejlődési stádiumot.

Nagyszámú természetes és szintetikus szteroid hormont vizsgálva, olyan feltételezés is született, hogy akár a vízben, akár az embrióban megtörténhet a szteroid molekulák átalakulása. Egyes szteroidok hatástalansága függhet a tiroxinnal való kapcsolatától (pl. elsődleges hatás a hipofízisre, a pajzsmirigyre vagy a májra), és ez állandó hibaforrás. Igen jelentősek KALTENBACH [46] kísérleti eredményei az izolált ebihal farokkal. Ezekben a kísérletekben tiroxint és dezoxikortikoszteront vagy kortizont, esetleg hidrokortizont tartalmazó golyócskák hatására a farok reszorbció megtörtént. Lehetséges, hogy egyes szteroidok esetében a minimális küszöbértéket a tiroxin intracelluláris kötődésére gyakorolt hatása jelenti. Az is elképzelhető, hogy szteroid hormonok a sejtmembrán permeabilitását változtatják meg. Mindenesetre még megoldatlan probléma, hogy a tiroxinnal indukált metamorfózisban milyen a szteroid hormonok hatásának jellege.

Az állatok elhelyezése sem közömbös a kísérletek szempontjából. Ha túl sokan vannak együtt, az gátolja őket a normális fejlődésben, növekedésben, az állatok kicsik maradnak. Nagy jelentősége van az oxigénnek is a növekedés és fejlődés szempontjából. Általában az a kedvező, ha nem különböző, hanem nagyjából azonos életkorú állatok vannak együtt [82]. Nem segíti elő az állatok ontogenezisét a vízben felgyülemlett alga, vagy az ebihalaktól származó fekália sem [80, 81]. AKIN [2] szerint viszont az ebihalak egyes algákat táplálkozási célra kedvezően használnak fel.

A táplálék minőségének is rendkívül nagy szerepe van, ennek hatását már több, mint 100 éve kutatják. Azonban még mindig nincsenek egyértelmű eredmények a diéta és a metamorfózis közötti közvetlen kölcsönhatást illetően. Ami jobban ismert, az az éhezés hatása. Az éhezés a kritikus szakaszig késlelteti a metamorfózist, azután pedig meggyorsítja azt. Bizonyos zsírok szintén késleltetik a metamorfózist, az aminosavak (pl. fenilalanin, tirozin, triptofán) meggyorsítják, hasonló serkentő hatású a glukóz, a szerves foszforsav, valamint a B<sub>12</sub>- és az E-vitamin [36, 72, 73, 76].

Az A-vitamin hatásával kapcsolatban a növekedés és a morfogenezis lelassulását figyelték meg, ezzel egyidejűleg lelassult és a normális időn belül nem fejeződött be a lárvák metamorfózisa. Ez a hipervitaminózis eredménye. Itt az A-vitamin hatására két gátló tényező alakult ki: 1. a pajzsmirigy hormonhatás korán fellépő és tartósan fennálló hiánya, illetve csökkent gátló állapota, 2. lizoszóma károsításon alapuló, viszonylag lassabban kifejlődő kóros állapot létrejötte, mely legszembetűnőbben a fejlődő végtagok többé-kevésbé súlyos torzulásán alapul [23]. *Xenopus laevis* ebihalakat A-vitaminban úsztatva a farok részleges morfogenezisét (metamorfózisát) figyelték meg [109]. Az A-vitaminban tartott állatokban a vékonybélben a tunica mucosa jelentősen megvastagodott és nőtt a kehelysejtek száma is. Hasonlókat észleltek



*Rana arvalis* ebihalakon FEUER és mtsai [23]. Igen jelentős és érdekes szerepet játszanak az A-vitaminnal kezelt ebihalakban a lizoszóma-membránt stabilizáló anyagok. A membrán hisztokémiai és biokémiai sajátosságaira vonatkozó vizsgálatok fontos adatokat adnak a metamorfózis biológiájára vonatkozóan. A lizoszomális enzimek aktivitása A-vitamin kezelés után, a hialuronsavtartalom meghatározása a farokúszókban az A-vitaminnal kezelt és a kontroll állatokban, mind a metamorfózis egy-egy fontos mozzanatára világítottak rá, amelyben a lizoszomális enzimeknek kulcsszerepük van.

### A hipofízis tireotróp működésének szabályozása kétélttűekben

A hipofízisnek a pajzsmirigy működés szabályozásában jelentős szerepe van. Ezért általánosan elfogadott a metamorfózis során a hipofízis—pajzsmirigy tengelyről, mint szabályozó szervről beszélni.

#### A pajzsmirigy rendszer

	Funkcionális egység	Hatásmód
I. Centrális szabályozás	Külső tényezők Központi idegrendszer befolyása: TRH-t termelő sejtek TRH-t termelő mediáció	Alkalmazkodás a környezethez
II. Tireotrop funkció	TSH-t termelő sejtek TSH a plazmában	Szintézis intenzitás Turnover
III. Pajzsmirigy funkció	Tiroid hormon (TH) szintézis TH szekréció	Intenzitás és eredményesség T <sub>3</sub> képzés?
IV. Perifériás hatás	TH a vérben TH a sejtben	Protein kötés turnover gyakoriság

*I. Centrális szabályozás.* A külső tényezők hatása, pl. fény a központi idegrendszeren keresztül érvényesül, közvetlen experimentális hatása ritkán tapasztalható.

A metamorfózis alatt a központi idegrendszer hatása elhanyagolható bár a premetamorfózisban a TSH szintézis növekedése a hipotalamusz serkentő hatásával kapcsolatos, amely szorosan összefügg az utóbbi differenciálódásával. Ez a differenciálódás kapcsolatban lehet a TRH-t szintetizáló neuronokkal, vagy a neurovascularis rendszer mediációt stimuláló hatásával.

Érett *Bufo bufoban* a hipofízis pars distalis a funkcióját csak akkor képes betölteni, ha a hipotalamusszal kapcsolatban van. A többi amfibium fajokban a pars distalis akkor is képes a jódfelvételre, ha nincs meg a kapcsolata a hipotalamusszal. Érdekes, hogy egyedül a *Bufo bufo* faj az egyetlen, amelyikben a TSH-t termelő sejtek függenek a hipotalamusz serkentő hatásától és egyúttal a *Bufo bufo* faj az, amelyik reagál a nagy dózisban beadott TRF-re is.



**II. Tireotróp hatás.** A TSH szintézis, a szekréció intenzitása két hormontól a  $T_3$  és a  $T_4$ -től, valamint a központi idegrendszer serkentő és gátló hatásától függ. A TH direkt gátló hatást fejt ki a TSH sejtekre. A tireotrop aktivitást meg lehet határozni, ha összehasonlítjuk a jódfelvételt a kezelt állatokban, valamint a hipofízis irtott, vagy TSH-, illetve PD-kezelt állatokban. A korai premetamorfózisban a PD megjelenésével kapcsolatos a TSH szekréció, amíg a hipofízis irtás csökkenti a nagyon fiatal lárvában is a jódfelvételt. Emlős TSH-t adva a *Bufo bufoba* a jódfelvétel 50%-kal nő. Hipofízis-irtás hatására a jódfelvétel egyes fajokban a normális mennyiség 25–30%-ára csökken.

**III. Pajzsmirigy-funkció.** A pajzsmirigy hormonszintézise mérhető a jódtartalmú aminosavak kivonásának módszerével. *Xenopus* lárvában a metamorfózis klimaxában a jódfelvétel csökken és nő a tiroxin aránya. Az érett és a lárvá állatokban a tiroxin aminosav-tartalmának aránya hasonló. A  $T_4$  aránya megfelel a jódtartalom 2–10%-ának.

**IV. A perifériás hatás.** A TH-koncentráció nagyon kicsi a lárvá prometamorfotikus fejlődési szakaszában, nő a premetamorfózisban, a csúcsát a metamorfózis klimaxában éri el, a metamorfózis végére csökken.

FRIEDEN szerint az amfibiumokban a TH sorsa a sejtekben úgy alakul, hogy a  $T_3$  és a  $T_4$  korlátozott hormonkötő képességű sejtmagreceptorokhoz kapcsolódnak; ezek a receptorok a kromatinban lokalizálódnak. Ez a kapcsolódás a hormonhatás első megjelenése. Írnak a citoplazmatikus fehérjék receptor képességeiről is. Ez utóbbiak affinitása kisebb, de kötőképessége nagyobb.

A szövetek hormonkötő képességének változása kapcsolatban áll a keringő hormon koncentrációjával ami a metamorfózis klimaxában negatív feedback hatást vált ki. A metamorfózis végső szakaszában a receptorok kötőképessége csökken. Miután a farok felszívódik, a farok receptorai teljesen eltűnnek. A máj kötőképessége drasztikusan változik.

Nincsenek adatok arra nézve, hogy milyen a szövetek TH-kötő képessége a metamorfózis utáni szakaszban, azonban a paramétereket a  $T_3$  és a  $T_4$  koncentrációja, valamint a turnoverének sebessége határozza meg. Jól értékelhetők a lehetséges biológiai különbségek, vagyis figyelemreméltó eltérés van az érett *Xenopus*ban mérhető  $T_4$  koncentráció és a metamorfózis klimaxában levő lárvában kimutatható  $T_4$  koncentrációja között, ez a periódus feltételezhetően az amfibiumoknak az az életszakasza, amikor a pajzsmirigy aktivitása a tetőpontját éri el [11, 15, 22, 41].

### A metamorfózis hormonális szabályozásának genetikai alapjai

A metamorfózis hormonális szabályozását a genetika újabb eredményei alapján az alábbi hipotézis szerint képzeljük el. Az amfibiumok differenciálódásával kapcsolatban fel kell tételeznünk, hogy az ebihalnak meg van genetikailag mindene, hogy béka legyen belőle és a metamorfózis tulajdonképpen a genetikai expresszivitásban jelent változást, tehát a metamorfózisban megjelenő morfogenetikai változások minőségét szabja meg. Azonban ez nagyon általános állítás és hasonlót már mondtak is az amfibiumokkal kapcsolatban. 44 évvel ezelőtt KAYWIN [51] a máj szöveti szerkezetének a metamorfózis



alatti változásait vizsgálva megállapította, hogy a legtöbb májsejt megváltozik anélkül, hogy osztódna, lényegesen degenerálódna, illetve átalakulna. Nagy hangsúlyt kap a metamorfózissal párhuzamosan végbemenő proteinváltozás. Ez a  $T_3$  és  $T_4$  analógok aktivitásában nyilvánul meg (pl. L-tiroxin, D-tiroxin, L-3,5,3'-trijódtironin, D-3,5-3'-trijódtironin stb.). A transzkripció és transláció genetikai szabályozása végezetül várhatólag visszatükröződik a specifikus fehérjék és enzimek szintézisének időtartamában.

Nagyon érdekes lenne ismerni a riboszóma és a sejthártya közötti kölcsönhatásokat, ilyen jellegű vizsgálatok azonban még eddig számunkra nem ismeretesek.

### *A pajzsmirigy-hormonok és a genetikai represszió kontrollja*

Feltételezhetjük, hogy a metamorfózis során az ebihal bizonyos génjei az operátort gátló represszorok jelenléte miatt inaktívak. A májban és más szövetekben a fehérjeszintézis rendszerében a nagy aktivitás növekedés ezeknek a represszoroknak fajtájára és mennyiségére vezethető vissza. A hisztonok — a mag bázikus fehérjéi — elsőrendű represszor anyagok. Ezek aktiválódása vagy mennyisége bizonyos folyamatok hatására — beleértve a metilációt és acetilációt is — csökkenhet. KIM és COHEN adatai szerint a tiroxinnal kezelt ebihal májában az RNS szintézise intenzívebb a DNS polimeráz szintézisénel.

A represszióknak a metabolizmusban két útja lehetséges. A legegyszerűbb magyarázat szerint, az az esemény, amikor az ebihal szeme elveszti képességét a retinen<sub>2</sub> kialakítására visszavezethető a retinen<sub>1</sub> túlsúlyára. Ekkor a rodopszin, a retinen<sub>2</sub> represszora a metamorfózis során aktiválódhat. Hasonló módon a májban a triptofánpiroláz csökkenését szintén genetikai represszor anyag felszabadulásának tulajdonítják. Mind a repressziót, mind a derepressziót (indukciót) okozhatja a hemoglobin átalakulása az ebihalra jellemző formából a fiatal felnőt békára jellemző formába [93, 98, 100].

ACKERMANN és munkatársai szerint az ebihalakban megfigyelhető pajzsmirigy hormonok által kiváltott metabolikus effektusok hasonlítanak az emlősökben tapasztaltakhoz. A hasonlóság abban nyilvánul meg, hogy a patkányban is a májban fokozódik a fehérjeszintézis, ha a pajzsmirigyirtott vagy a pajzsmiriggyel rendelkező állatoknak  $T_3$ -t vagy  $T_4$ -t adnak. Ennek a proteinszintézisnek a pontos mechanizmusa azonban még vitatott. ACKERMANN [1] szerint a pajzsmirigy-hormonok szerepe elsősorban az, hogy szabályozzák a purinszintézist, elsősorban a GMP szintézis gátlása és az AMP-képzés serkentése révén.

A gén represszióknak a metabolizmusban két útja lehetséges. Az egyik forma a szem kialakulásának, illetve a látás kialakulásának zavara, amennyiben a retinen<sub>2</sub> rendszer represszora aktiválódik a metabolizmus alatt. Hasonló jelenséget figyelt meg SPIEGEL [93], vagyis egy genetikailag represszorként ható szubsztancia felszabadulását. Mind a represszió, mind pedig a derepresszió (indukció) folyamatát az ebihal hemoglobinja indukálja [98, 100]. Vannak adatok arra nézve, hogy a  $T_4$  *in vivo* hatása a DNS-től függő RNS polimeráz aktivitás növekedésével kapcsolatos, ez pedig megnövekedett mRNS produkcióhoz és fehérjeszintézishez vezet.



## Összefoglalás

A metamorfózis számos élőlény csoportra, így a kétéltűekre is jellemző fejlődésbiológiai folyamat. Az amfibiumok közül az Anurák specializálódtak a legnagyobb mértékben. Lárva formájuk — az ebihalak — a felnőtt egyedektől a légzés módjában, a test felépítésében, a vér összetételében, a környezetben, ahol élnek és még sok másban különböznek.

A metamorfózis — így a farkatlan kétéltűek metamorfózisa is — olyan láncreakciók összessége, melynek folyamatában meghatározott sorrendben több szöveti rendszer vesz részt. A metamorfózisra utaló biokémiai változások, morfogenetikai folyamatok és az összes többi, az egyedfejlődésnek ebben a szakaszában megfigyelhető reakció ugyan neuroendokrin szabályozás alatt áll, de mégis az endokrin rendszer az, ami ebben az igen sajátos biológiai folyamatban vezető szerepet játszik. A pajzsmirigy hormonja, a tiroxin iniciálja elsősorban a metamorfózisra utaló reakciókat. Kísérletes körülmények között megfigyelték, hogy az endokrin szabályozás már a premetarmorfózis szakaszában is jelentkezik. Abban az időszakban a tiroxin a mesencephalon *V*-sejtjeinek méretbeli változását okozza. Ugyancsak a tiroxin szabályozza az ebihal farokizomzatának felszívódását, valamint a törzs izomzatának mozgását.

A hipofízisnek a pajzsmirigy-működés szabályozásában jelentős szerepe van. A hipofízis—pajzsmirigy tengelyről beszélünk, mint szabályozó szervről. Ebben a rendszerben érvényesül, bár nem nagy mértékben 1. a centrális szabályozás — a központi idegrendszer — hatása, 2. a hipofízis tireotróp hatása, 3. a pajzsmirigy hormon termelése és 4. a hormonok perifériás hatása.

A tiroxin mellett a tiroxin prekursorok, így a trijód-tironin és a dijód-tironin is jelentős morfogenetikus hatással rendelkeznek. A 3,5,3'-trijód-tironin az ebihalakban a tiroxinnál nagyobb hatást fejt ki. A metamorfózis genetikai szabályozásában nagy jelentőséggel bíró protein változás a  $T_3$  és  $T_4$  analógok aktivitásában nyilvánul meg. A prekursorok hatásának vizsgálatakor különösen fontos a dózis-hatás figyelembevétele. A tiroxin prekursorai kisebb koncentrációban hatásosak, mint a tiroxin. Ennek a jelenségnek magyarázatát a receptormintázat adja. A lárva — embrionális — állapotban levő fiatal állatok, az ebihalak receptorai alkalmasabbak a tiroxin prekursorokkal történő kapcsolatok felvételére. A tiroxin prekursorokon kívül a tiroxin analógok metamorfotikus hatása is jelentős, itt kiemelendő, hogy a célszervek szelekciója, a tiroxin analógokkal szemben nem észlelhető. A hormonhatás vizsgálatában nagy jelentőséggel bír 1. az alkalmazott hormon mennyisége — dózis hatás —, 2. a hormonfelvétel — a beadás, kezelés stb. — módja, 3. a hormonhatás időtartama.

## IRODALOM

1. ACKERMAN, C. J., AL-MUDHAFFAR, S. and MAH, V. (1966) The inhibition of GPM synthesis by thyroid hormones. *Fed. Proc.*, **25**, 618.
2. AKIN, G. C. (1966) Self-inhibition growth in *Rana pipiens* tadpoles. *Physiol. Zool.*, **39**, 341—356.
3. BAGNARA, J. T. (1964) Analyse des transformations des pteridines de la peau au cours de la vie larvaire et à la métamorphose chez le Triton Pleurodeles walthi Michah. Changements induits par l'action localisée d'implants de thyroxine-cholestérol. *C. R. Acad. Sci. (Paris)*, **258**, 5969—5971.



4. BARCH, S. H. (1953) Oxygen consumption of normal and thyroxine stimulated *Rana pipiens* skin. *Physiol. Zool.*, **26**, 223—231.
5. BARRY, D. G. (1952) Local action of thyroxine on metamorphosis of the amphibian gut. *Dissertation Abstr.*, **12**, 605.
6. BLACHER, L. J., WORONZOWA, M. A., LIOSNER, L. D. and SAMARAJEV, W. N. (1931) Resorptionsprozesse als Quelle der Formbildung. VII. Die Mitogenetischen Ausstrahlungen als Stimulus des Wachstums des Vorderbeines bei der Metamorphose von *Rana temporaria*. *Arch. Entwicklungsmech. Org.*, **124**, 138—153.
7. CHAPMAN, G. B. and DAWSON, A. B. (1961) Fine structure of the larval anuran epidermis with special reference to the figures of Eberth. *J. Biophys. Biochem. Cytol.*, **10**, 425—435.
8. CLARK, N. B. and KALTENBACH, J. C. (1961) Direct action of thyroxine on skin of the adult newt. *Gen. Comp. Endocr.*, **1**, 513—518.
9. CLEVER, U. and KARLSON, P. (1960) Induktion von Puff-Veränderungen in den Speicheldrüsenchromosome von *Chironomus tentans* durch Ecdyson. *Exp. Cell. Res.*, **20**, 623
10. COKEN, P. P. (1966) Biochemical aspects of metamorphosis: Transition from ammonotelism to ureotelism. *Harvey Lect.*, **60**, 119—154.
11. COHEN, P. P., BRUCKER, R. T. and MORRIS, S. M. (1978) Cellular and molecular aspects of thyroid hormone action during amphibian metamorphosis. In: LIC, C. H. (ed.): *Hormonal proteins and peptides*. Vol. **6**, Academic Press, New York, 273—381.
12. CSABA G. (1975) Néhány gondolát a hormonreceptorok filo- és ontogeneziséhez. *Biológia (Budapest)*, **23**, 37—44.
13. CSABA, G. (1978) A hormonreceptorok fejlődése. *Orvosi Hetilap*, **119**, 123—130.
14. DASTOLI, R. R. and TECTOR, A. J. (1959) The effect of cortisone on amphibian metamorphosis. *J. Exp. Zool.*, **87**, 259—277.
15. DERBY, A. (1975) The effect of prolactin and thyroxine on tail resorption *Rana pipiens*: *in vivo* and *in vitro*. *J. Exp. Zool.*, **193**, 15—20.
16. EATON, J., CORY, J. G. and FRIEDEN, E. (1967) Early effects of triiodothyronine on purine nucleotide and RNA metabolism in frog tadpole. *Fed. Proc.*, **26**, 392.
17. ETKIN, W. (1935) The mechanisms of anuran metamorphosis. I. Thyroxine concentration and the metamorphic pattern. *J. Exp. Zool.*, **71**, 317—340.
18. ETKIN, W. (1950) The acquisition of thyroxine sensitivity by tadpole tissues. *Anat. Rec.*, **108**, 541.
19. ETKIN, W. (1955) Metamorphosis. In: WILLIER, B. H., WEISS, P. A. and HAMBURGER, V. (eds): *Analysis of development*. Saunders, Philadelphia, 631—663.
20. ETKIN, W. (1964) Metamorphosis. In: MOORE, J. (ed.): *Physiology of the amphibia*. Academic Press, New York, 427—468.
21. ETKIN, W. (1966) Hypothalamic sensitivity to thyroid feedback in the tadpole. *Neuroendocr.*, **1**, 293—302.
22. ETKIN, W. and GONA, A. G. (1967) Antagonism between prolactin and thyroid hormone in amphibian development. *J. Exp. Zool.*, **165**, 249—258.
23. FEUER, L., TÖRÖK, L. J., KAPA, E. and CSABA, G. (1978) The effect of gamma-L-glutamyltaurine (Litoralon) on the amphibian metamorphosis. *Comp. Biochem. Physiol.*, **610**, 67—71.
24. FINAMORE, F. J. and FRIEDEN, E. (1960) Nucleic acids and induced amphibian metamorphosis. *J. Biol. Chem.*, **235**, 1751.
25. FOOTE, F. M. and FOOTE, C. L. (1965) Organs of the larval axolotl (*Siredon mexicanum*) grow singly or in combination *in vitro*. *Trans. Illionis State Acad. Sci.*, **58**, 164—175.
26. FOX, H. (1975) Aspects of tail muscle ultrastructure and its degeneration in *Rana temporaria*. *J. Embryol. Exp. Morphol.*, **34**, 191—207.
27. FRIEDEN, E. (1961) Biochemical adaptation and anuran metamorphosis. *Amer. Zool.*, **1**, 115—149.
28. FRIEDEN, E. and JUST, J. (1970) Hormonal responses in amphibian metamorphosis. In: G. LITIVACK, G. (ed.): *Biochemical Action of Hormones*. Vol. **1**, Academic Press, New York, 1—52.
29. FRIEDEN, E. and NAILE, B. (1955) Biochemistry of amphibian metamorphosis. I. Enhancement of induced metamorphosis by glucocorticoids. *Science*, **121**, 37—39.
30. GASCHE, P. (1945) Einwirkung von Desoxycorticosteron-Acetat auf Larven von *Xenopus laevis* in den verschiedenen Metamorphosestadien. *Helv. Physiol. Acta*, **3**, C10—11.
31. GOSNER, K. T. (1960) A simplified table for staging anuran embryos and larvae with notes on identification. *Herpetologica*, **16**, 183—190.
32. GROSS, J. and LAPIERE, C. M. (1962) Collagenolytic activity in amphibian tissues: A tissue culture assay. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, **48**, 1014—1022.



33. GROSS, J. and PITT-RIVERS, R. (1952) The identification of 3,5,3'-L-triiodothyronine in human plasma. *Lancet*, **1**, 439—441.
34. GROSS, J., PITT-RIVERS, R. (1952) Physiological activity of 3,5,3'-L-triiodothyronine. *Lancet*, **1**, 539—594.
35. GUDERNATSCH, J. F. (1912) Feeding experiments on tadpoles. I. The influence as specific organs given as food on growth and differentiation. A contribution to the knowledge of organs with internal secretion. *Arch. Entwicklungsmech. Organ*, **35**, 457—483.
36. GUDERNATSCH, J. F. and HOFFMAN, O. (1936) A study of the physiological value of  $\alpha$ -amine acids during the early periods of growth differentiation. *Arch. Entwicklungsmech. Org.*, **135**, 136—177.
37. HARTWIG, H. (1936) Über die Beziehungen zwischen Schilddrüse und Entwicklung bei Salamanderlarven unter dem Einfluss verschiedener Temperaturen. *Arch. Entwicklungsmech. Org.*, **134**, 562—587.
38. HARTWIG, H. (1940) Metamorphose-Reaktionen auf einen localiserten Hormonreiz. *Biol. Zentr.*, **60**, 473—478.
39. HAUSER, R. and LEHMAN, R. E. (1962) Regeneration in isolated tails of *Xenopus* larvae. *Experientia*, **18**, 83—84.
40. HEINEMANN, F. and WEBER, R. (1966) Der  $O_2$ -Verbrauch im regredierenden Schwanzgewebe von *Xenopus*larven bei spontaner Metamorphose und bei thyroxinbedingter Rückbildung *in vitro*. *Helv. Physiol. Pharmacol. Acta*, **24**, 124—138.
41. JAFFE, R. C. and GESCHWIND, I. I. (1974) Studies on prolactin inhibition of thyroxine-induced metamorphosis in *Rana castesbeiana* tadpoles. *Gen. Comp. Endocrinol.*, **22**, 289—295.
42. KALTENBACH, J. C. (1950) Localized metamorphic changes in the skin of *Rana pipiens* larvae by subcutaneous implants of mouse and frog thyroid glands containing radioactive iodine. *Anat. Rec.*, **103**, 526—527.
43. KALTENBACH, J. C. (1953) Local action of thyroxine on amphibian metamorphosis. I. Local metamorphosis in *Rana pipiens* larvae effected by thyroxine-cholesterol implants. *J. Exp. Zool.*, **122**, 21—39.
44. KALTENBACH, J. C. (1953) Local action of thyrosin on amphibian metamorphosis. II. Development of the eye lids, nictitating membrane, cornea, and extrinsic ocularmuscle in *Rana pipiens* larvae effected by thyroxine-cholesterol implants. *J. Exp. Zool.*, **122**, 41—51.
45. KALTENBACH, J. C. (1953) Local action of thyroxine on amphibian metamorphosis. III. Formation and perforation of the skin window in *Rana pipiens* larvae effected by thyroxine-cholesterol implants. *J. Exp. Zool.*, **122**, 449—467.
46. KALTENBACH, J. C. (1958) Direct steroid enhancement of induced metamorphosis in peripheral tissues. *Anat. Rec.*, **131**, 569—570.
47. KALTENBACH, J. C. (1959) Local action of thyroxine on amphibian metamorphosis. IV. Resorption of the tail fin in anuran larvae effected by thyroxine-cholesterol implants. *J. Exp. Zool.*, **140**, 1—17.
48. KALTENBACH, J. C. (1971) Histochemical patterns in the tail of the metamorphosing tadpole. In: HAMBURGH, M. and BARRINGTON, E. J. E. (eds.): *Hormones in Development*. Appleton-Century-Crofts, New York, 281—297.
49. KALTENBACH, J. C., FRY, A. E. and LEIUS, V. K. (1979) Histochemical patterns in the tadpole tail during normal and thyroxine-induced metamorphosis. II. Succinic dehydrogenase, Mg- and Ca-adenosine triphosphatases, thiamine pryphosphatase and 5'-nucleotidase. *Gen. Comp. Endocrinol.*, **38**, 111—126.
50. KAYE, N. W. (1961) Interrelationship of the thyroid and pituitary in embryonic and premetamorphic stages of the frog, *Rana pipiens*. *Gen. Comp. Endocr.*, **6**, 303—311.
51. KAYWIN, L. (1936) A cytological study of the digestive system of anural larvae during accelerated metamorphosis. *Anat. Rec.*, **64**, 413—437.
52. KIM, K. H. and COHEN, P. P. (1966) Modification of tadpole liver chromatin by thyroxine treatment. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, **55**, 1251—1255.
53. KOBAYASHI, H. (1958) Effects of desoxicorticosterone acetate on metamorphosis induced by thyroxine in anuran tadpoles. *Endocrinology*, **62**, 371—377.
54. KOBAYASHI, H. and OKUBO, K. (1954) Effects of desoxicorticosterone acetate on broodiness, molting and pituitary lactogen content in the canary, and on the metamorphosis of the toad tadpole. *Annotations Zool. Japan*, **27**, 173—179.
55. KOLLROS, J. J. (1942) Localized maturation of lid-closure reflex mechanisms by thyroid implants into tadpole hindbrain. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **49**, 204—206.
56. KOLLROS, J. J. (1957) Influence of thiourea on growth of cells of midbrain in frogs. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **95**, 138—141.



57. KOLLROS, J. J. (1958) Selectivity in sites of action of thyroxine analogues in induced anuran metamorphosis. *Anat. Rec.*, **130**, 327.
58. KOLLROS, J. J. (1958) Hormonal control of onset of corneal reflex in the frog. *Science*, **128**, 1505.
59. KOLLROS, J. J. (1961) Mechanisms of amphibian metamorphosis: Hormones. *Amer. Zool.*, **1**, 107—114.
60. KOLLROS, J. J. (1963) Immersion as a method of thyroxine administration in amphibian metamorphosis studies. *Develop. Biol.*, **7**, 1—10.
61. KOLLROS, J. J. and KALTENBACH, J. (1952) Local metamorphosis of larval skin in *Rana pipiens*. *Physiol. Zool.*, **25**, 163—170.
62. KOLLROS, J. J. and MCMURRAY, J. (1956) The mesencephalic V nucleus in anurans. II. The influence of thyroid hormone on cell size and cell number. *J. Exp. Zool.*, **131**, 1—26.
63. KOLLROS, J. J. and REITER, R. (1965) Thyroid hormone exchange between environment and tadpoles of *Rana pipiens*. *Anat. Rec.*, **151**, 374.
64. KUHN, O. and HAMMER, H. O. (1956) Über die Einwirkung des Schilddrüsenhormons auf die Ossifikation. *Experientia*, **12**, 231—233.
65. LIPSON, M. S. and KALTENBACH, J. C. (1956) A histochemical study of the oesophagus and stomach of *Rana pipiens* during normal and thyroxine-induced metamorphosis. *Amer. Zool.*, **5**, 212.
66. LITTLE, G. H., ATKINSON, B. G. and FRIEDEN, E. (1973) Changes in the rates of protein synthesis and degradation in the tail of *Rana catesbeiana* tadpole during normal metamorphosis. *Develop. Biol.*, **30**, 366—373.
67. LYNNE, J. E. (1978) Prolactin action on extracellular fluid volume in tails of stage XII. Bullfrog tadpoles. *Gen. Comp. Endocrinol.*, **37**, 369—373.
68. LYNNE, E. and LIPPNER, H. (1973) Acceleration of thyroxine-induced metamorphosis by prolactin antiserum. *Gen. Comp. Endocrinol.*, **25**, 462—466.
69. LYNNE, E. and LIPPNER, H. (1976) Amphibian metamorphosis: The role of thyrotropin-like hormone. *Gen. Comp. Endocrinol.*, **29**, 333—336.
70. MANWELL, C. (1966) Metamorphosis and gene action. I. Electrophoresis of dehydrogenases, esterases, phosphatases, hemoglobins and other soluble proteins of tadpole and adult bullfrogs. *Comp. Biochem. Physiol.*, **17**, 805—823.
71. MANNER, H. W. (1958) The effect of prednisolone acetate on amphibian metamorphosis. *Anat. Rec.*, **132**, 472.
72. MCCARRISON, R. (1921) The function of adrenal gland and its relation to concentration of hydrogen-ion. *Brit. Med. J.*, **1**, 101—102.
73. MEDDA, A. K., BHATTACHARYA, G. C. and NANADI, P. N. (1956) On the action of penicillin on the retardation of metamorphosis of tadpoles. *Sci. Cul. (Calcutta)*, **22**, 173—174.
74. NIAZI, J. A. and 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.
75. NICOLL, C. S., BERN, H. A., DUNHEP and STROHMAN, R. C. (1965) Prolactin, growth hormone, thyroxine and growth of tadpoles of *Rana catesbeiana*. *Amer. Zool.*, **5**, 739.
76. PERICHANJANZ, J. and SUDLIKOWSKAJA, O. (1936) Über die Gemeinsame Wirkung von Glukose und Organischen Phosphorverbindungen auf den Wuchs und die Differenzierung von Kaulquappen der *Rana temporaria*. *Arch. Int. Pharmacodyn.*, **54**, 349—354.
77. PESETSKY, J. (1962) The thyroxine-stimulated enlargement of Mauthner's neuron in anurans. *Gen. Comp. Endocrinol.*, **5**, 411—417.
78. PESETSKY, J. (1966) The role of thyroid in the development of Mauthner's neuron. A karyometric study in thyroidectomized anuran larvae. *Z. Zellforschung*, **75**, 138—145.
79. PESETSKY, J. and KOLLROS, J. J. (1956) A comparison of the influence of locally applied thyroxine upon Mauthner's cell and adjacent neurons. *Exp. Cell. Res.*, **11**, 477—482.
80. RICHARDS, C. M. (1958) Inhibition of growth in crowded *Rana pipiens* tadpoles. *Physiol. Zool.*, **31**, 138—151.
81. RICHARDS, C. M. (1962) The control of tadpole growth by algalike cells. *Physiol. Zool.*, **35**, 285—296.
82. ROSE, S. M. (1959) A feedback mechanisms of growth control in tadpole. *Ecology*, **41**, 188—199.
83. ROTH, P. (1948) Sur l'action antagoniste des substances oestrogènes dans la métamorphose expérimentale des amphibiens. *Bull. Mus. Nation. Hist. Nat. (Paris)*, **20**, 408—415.
84. ROTH, P. (1953) Action de la 3:5:3' triiodthyronine sur la métamorphose des têtards de *Rana temporaria* L. *Ann. Endocr.*, **14**, 857—864.
85. RYFFEL, G. and WEBER, R. (1973) Changes in the patterns of RNS synthesis in different tissues of *Xenopus* larvae during induced metamorphosis. *Exp. Cell. Res.*, **77**, 79—88.



86. SAKEM, M., BURR, G. and ATKINSON (1979) Thyroid hormone-induced regulation of protein synthesis in tadpole tail muscle. *Gen. Comp. Endocrinol.*, **38**, 441—450.
87. SASAKI, F. (1974) Histochemical and ultrastructural studies of tail muscles in the anuran tadpole. *Acta Histochem. Cytochem.*, **7**, 239—256.
88. SASAKI, F. (1976) Histochemical and ultrastructural studies of tail muscle in the anuran tadpole. *Acta Histochem. Cytochem.*, **9**, 88. (Abstract)
89. SASAKI, F. (1979) Ultracytochemical study of lactate dehydrogenase activity in the tail muscles of anuran tadpoles during metamorphosis. *Acta Histochem.*, **12**, 7—19.
90. SAXÉN, L. (1957) Schilddrüsenaplasie als Ursache von partieller Neotenie. *Acta Endocr.*, **24**, 271—281.
91. SCHAFFER, B. M. (1963) The isolated *Xenopus laevis* tail. A preparation for studying the central nervous system and metamorphosis in culture. *J. Embryol. Exp. Morphol.*, **11**, 77—90.
92. SILBERT, J. E., NAGAI, Y. and GROSS, J. (1965) Hyaluronidase from tadpole tissue. *J. Biol. Chem.*, **240**, 1509—1511.
93. SPIEGEL, M. and SPIEGEL, E. S. (1964) The regulation of liver tryptophan pyrrolase activity during the development of *Rana catesbeiana*. *Biol. Bull.*, **126**, 307—318.
94. STEPHENSON, E. M. (1967) Effects of temperature on tadpole hearts *in vitro*. *J. Embryol. Exp. Morphol.*, **17**, 147—159.
95. TATA, J. R. (1965) Turnover of nuclear and cytoplasmic ribonucleic acid at the onset of induced amphibian metamorphosis. *Nature.*, **207**, 378—381.
96. TATA, J. R. (1966) Requirement for RNA and protein synthesis for induced regression of the tadpole tail in organ culture. *Develop. Biol.*, **13**, 77—94.
97. TAYLOR, A. C. and KOLLROS, J. J. (1946) Stages on the normal development of *Rana pipiens* larvae. *Anat. Rec.*, **94**, 7—24.
98. THEIL, E. C. (1967) The synthesis of hemoglobin and non-hemoglobin protein of amphibian red blood cells related to metamorphosis. *Biochim. Biophys. Acta.*, **138**, 175—185.
99. TONONE, T. and FRIEDEN, E. (1970) The effect of triiodothyronine on leucine incorporation into tail and other tadpole tissues. *J. Biol. Chem.*, **245**, 2359—2362.
100. TRADER, C. D. and FRIEDEN, E. (1967) Dimerization and other chemical changes in amphibian hemoglobin during metamorphosis. *J. Biol. Chem.*, **241**, 357—366.
101. VANABLE, J. W. JR. (1965) Organ culture of *Xenopus laevis* larval skin. *Amer. Zool.*, **5**, 663.
102. VERMA, K. (1965) Regional differences in skin gland differentiation in *Rana pipiens*. *J. Morph.*, **117**, 73—85.
103. WALD, G. (1946) The chemical evolution of vision. *Harvey Lect.*, **41**, 117—160.
104. WATANALBE, K., SASAKI, F. and KHAN, M. A. (1978) Light and elektronmicroscopic study of adenosine triphosphatase activity of anuran tadpole musculature. *Histochemistry*, **55**, 293—305.
105. WEBER, R. (1962) Induced metamorphosis in isolated tails of *Xenopus larvae*. *Experientia*, **18**, 84—85.
106. WEBER, R. (1963) Zur Aktivierung der Kathepsine im Schwanzgewebe von *Xenopus*-larven bei spontaner und *in vitro* indizierten Rückbildung. *Helv. Physiol. Pharmacol. Acta*, **21**, 277—291.
107. WEBER, R. (1969) Tissue involution and lysosomal enzymes during anuran metamorphosis. In: DINGLE, J. T. and FELL, H. B. (eds.): *Lysosomes in biology and pathology*. Vol. **2**, North-Holland, Amsterdam, 437—461.
108. WEBER, R. (1976) Biochemical characteristics of tail atrophy during anuran metamorphosis. *C. N. R. S.* **66**, 137—146.
109. WEISSMANN, G. (1961) Changes in connective tissue and intestine caused by vitamin A in amphibian and their acceleration by hydrocortisone. *J. Exp. Med.*, **114**, 581—592.
110. WILT, F. H. (1959) The differentiation of visual pigments in metamorphosing larvae of *Rana catesbeiana*. *Develop. Biol.*, **1**, 199—233.
111. WILT, F. H. (1959) The organ specific action of thyroxine in visual pigment differentiation. *J. Embryol. Exp. Morph.*, **7**, 556—563.
112. WRIGHT SISTER MARY L. (1977) Regulation of cell proliferation in tadpole limb epidermis by thyroxine. *J. Exp. Zool.*, **202**, 223—234.
113. WRIGHT SISTER MARY L., MAUREEN, A., MAYERONSKY, S., LUKAS, A. and PIKE, A. (1979) Effect of prolactin on growth, development and epidermal cell proliferation in hindlimb of the *Rana pipiens* tadpole. *Gen. Comp. Endocrinol.*, **39**, 53—62.
114. YAMAMOTO, K., KANSKI, D., and FRIEDEN, E. (1966) The uptake and excretion of thyroxine triiodothyronine and iodide in bullfrog tadpoles after immersion or injection 25 and 6 °C. *Gen. Comp. Endocr.*, **6**, 312—324.



115. YOSHIRATO, K. and YASUNASU, I. (1972) Effect of prolactin on tadpole tail fin. V. Stimulatory effect of prolactin on the incorporation of  $^3\text{H}$ -thymidine into DNA of the tadpole tail fin. *Develop. Growth. Differentiation*, **14**, 129—132.

## METAMORPHOSIS:

### A PROBLEM IN DEVELOPMENTAL BIOLOGY OF AMPHIBIANS (ANURA)

*Kapa, Eszter*

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

Metamorphosis is a characteristic biological process of numerous groups of animals thus also of the amphibia. Among the amphibia the anures the most specialised are. Their larval stage — the tadpole — differs from the adult individuals in the way of respiration, in the structure of the body, in the composition of the blood, in the surroundings where it lives and in many other things.

Metamorphosis — thus also the one of the tailless amphibians — is the summary of chain reactions, in the course of which several tissue systems take part in a definite succession. The biochemical changes referring to the metamorphosis are morphogenetic processes, and all the other reactions which can be observed in this period are though under neuro-endocrine regulation, the endocrine system plays still the leading role in this most peculiar biological process. It is in the first place thyroxine, the hormone of the thyroid gland which initiates the reactions referring to the metamorphosis. Under experimental conditions it could be observed that the endocrine regulation manifested itself already in the premetamorphic stage. In that period thyroxine causes a change of dimensions of the  $V$  cells of the mesencephalon on the pelvic wall. It is similarly thyroxine that regulates the tail muscles of the anure, as well as of the moving of the musculature of the trunk.

In the regulation of the function of the thyroid gland the hypophysis has a significant role. The pituitary-thyroid axis is mentioned as a regulatory organ. This is the system, in which, although in a smaller degree,

1. the central regulation — the central nervous system —
2. the thyreotropic effect of the hypophysis
3. the hormone production of the thyroid gland — and
4. the peripheral effect of the hormones

are displayed.

Besides thyroxine also the thyroxine precursors thus triiodothyronine and diiodotyrosine have a significant morphogenetic effect. 3,5'-triiodotyronine produces a greater effect in the tadpoles than thyroxine. The highly important change in proteins which has a significant role in genetic regulation, appears in the activity of the  $T_3$  and  $T_4$  analogues. In the study of the effect of the precursors the consideration of the dose-effect is of special importance. The thyroxine precursors are more effective in lower concentration than thyroxine itself. The explanation of this phenomenon is given by the pattern of the hormone receptors. The receptors of the tadpoles are rather suitable to react with thyroxine precursors. Besides the thyroxine precursors also the metamorphic effect of the thyroxine analogues is significant; it is to be noted that the selection of the target organs of the thyroxine analogues cannot be observed. In the examination of the hormone effect the following factors have great significance:

1. the quantity of the used hormone — dose effect,
2. the means of hormone intake — the way of treatment,
3. the duration if the hormonal effect.



## LEKTIN-BIOLÓGIA

KOVÁCS PÉTER

Semmelweis Orvostudományi Egyetem Biológiai Intézete, Budapest

Béérkezett: 1980. november 12-én

*Kulcsszavak:* lektin, membrán-glikoproteinek, agglutináció, affinitás-kromatográfia, receptor

Az utóbbi időben a lektinek több szempontból is az érdeklődés középpontjába kerültek. Ez annak a ténynek köszönhető, hogy a lektinek meghatározott cukorspecifitással rendelkező fehérjék. A cukorkomponensek viszont a sejtek életében igen széles körű, fontos funkciókat betöltő alkotóelemek: szerepet játszanak sok felismerési folyamatban (sejt-sejt felismerés, szöveti kötélek kialakulása stb.), az ivarsejtek összekapcsolódásában több alacsonyabb rendű organizmusban, intracelluláris transzportfolyamatokban meghatározzák az egyes fehérjék rendeltetési helyükre való kerülését stb. Sejtfelszíni komplex szénhidrátok ezenfelül fontos szerepet játszanak a hormon-recepcióban, enzimek és toxinok kötődésében, valamint az immunválaszban. Mivel ezen folyamatok lényege cukorkomponensek fehérjék által való felismerése, a felismerő fehérjéket lektineknek kell tartanunk. E lektinek, melyek glikoproteinek, főleg membránhoz asszociálódva helyezkednek el. Az említett folyamatokban betöltött fontos szerepük indokolja intenzív kutatásukat.

Az említett cukorkomponensek tanulmányozhatók *in vitro* körülmények között: biokémiai módszerek segítségével, hisztokémiailag.

Igen nagy lendületet adott a lektinokkal való membránkutatásoknak az a tény, hogy különbözik a normál és a transzformált sejtek lektinkötése. Limfociták blasztogenezise bizonyos lektinokkal indukálható. Ilyen jellegű kísérletek során végső soron az immunválasz *in vitro* modellje állítható elő. Ezenfelül természetesen még igen kiterjedt körben alkalmazzák a lektinokat, kezdve a vércsoport-meghatározásoktól a kromoszóma-vizsgálatokig.

Az alábbiakban a teljesség igénye nélkül, a lektinek szerkezetéről, előfordulásukról, az élő sejtekben, szervezetekben betöltött funkciójukról, valamint a különböző kutatásokban való felhasználásukról szeretnénk áttekintést nyújtani.

### A lektin fogalma

A lektinek körébe sorolják azokat a cukorspecifitással rendelkező fehérjéket, melyek nem immuneredetűek, nem cukorspecifikus enzimek (pl. mint a glikozidázok), és legalább két kötőhellyel rendelkeznek. (A cukorspecifikus enzimek, valamint bizonyos toxinok egy-egy kötőhellyel rendelkeznek.)

A *lektin* szó a latin „legere”-ből (kiválaszt, szelektál) származik. Ezt az elnevezést BOYD és SHARPLEIGH használta először 1954-ben [8]. A *lektin-*



nel analóg elnevezés a „fitohemagglutinin”, mely növényi eredetű hemagglutinációs képességű fehérjékre utal, de az elnevezés nem teljesen fedi az utóbbi idők lektin-fogalmát, ugyanis sok növényi forrásból származó lektinről ismert, hogy nem rendelkeznek hemagglutinációs aktivitással, valamint több állati eredetű lektint is kimutattak, jellemeztek.

Az első vizsgált lektinek növényi, főleg pillangósok magjából származó lektinek voltak. E növények magjaiban ugyanis az összes fehérjemennyiség mintegy 1—10%-át is eléri a lektinek mennyisége.

E növényi fehérjék hemagglutinációs hatását már a múlt században felismerték [15]. A leggyakrabban használt lektint, a Con-A-t pedig már 1919-ben izolálták a *Canavalia ensiformis* magjából [57], s kimutatták, hogy glikogént képes precipitálni. Jelentős lépés volt, hogy felismerték, bizonyos lektinek specifikusak az ABO-vércsoportrendszer vörösvértestjeinek agglutinálásában [45] (I. táblázat). Később az Rh-rendszerre is találtak specifikus lektineket [7].

### I. táblázat

#### Vércsoport-specifikus lektinek

Table 1. Blood group specificity of some lectins

Forrás	Vércsoport-specifitás	Az agglutináció hatása
<i>Vicia cracca</i>	A	N-acetil-D-galaktózamin
<i>Helix pomatia</i>	A	N-acetil-D-galaktózamin
<i>Dolichos biflorus</i>	A <sub>1</sub>	N-acetil-D-galaktózamin
<i>Hygrophorus hypothejus</i>	A, B	N-acetil-galaktózamin-laktóz
<i>Brandeiraea simplicifolia</i>	B	D-galaktopiranozid
<i>Lotus tetragonolobus</i>	H	Metil-L-fukopiranozid
<i>Ulex europeus</i>	H	L-fukóz
<i>Iberis amara</i>	M	N-acetil-D-galaktózamin
<i>Vicia graminea</i>	N	N-acetil-D-galaktózamin (1 → 3)-D-galaktóz
<i>Arachis hypogaea</i>	T	N-acetil-D-galaktózamin (1 → 3)-D-galaktóz

Lényeges felfedezésnek bizonyult, hogy sok lektin mitogén aktivitással rendelkezik, s ezt a tényt jól fel tudták használni pl. kromoszóma preparálásra [39].

1963-ban felfedezték, hogy tumorsejtek, malignusan transzformált sejtek agglutinálhatók búzacsíra-pektinnel [4]. Ezirányú kutatások sok értékes információt szolgáltattak a daganatsejtek membránjával kapcsolatban.

A sejtek különböző fázisában levő, valamint a különböző fejlettségű, differenciálódási fokú sejtek lektinkötése is különböző. Érdekes módon a mitotikus fázisú sejtek lektinkötése sok hasonlóságot mutat a transzformált sejtekéhez.

A lektinek glikoproteinek. Szénhidrát-tartalmuk elérheti a 22%-ot is. Általában négy alegységből állanak. Több lektin esetében ezek az alegységek teljesen megegyeznek, s ennek megfelelően azonos cukorspecifitással, cukorkötőhellyel rendelkezik minden alegység. Az ilyen típusú lektinek általában



erős hemagglutinációs aktivitással rendelkeznek, ugyanis minden kötőhelyükkel képesek a vörösvértestmembrán azonos struktúráihoz kötődni, ami agglutinációhoz vezet. Ilyen lektinek pl. a concanavalin-A, a *Phaseolus coccineus* és a *Phaseolus lunatus* lektinjé. Más lektinek esetében, mint pl. a *Dolichos biflorus* lektinjé, vagy a *Lens culinaris* lektinjé, az aktív molekulakomplexumot két pár protomer alkotja, s ez a komplexum két kötőhellyel rendelkezik. Ezek a lektinek is rendelkezhetnek hemagglutinációs aktivitással. A lektinek harmadik csoportjának nincs hemagglutinációs aktivitása. Ez valószínűleg annak köszönhető, hogy kötőhelyeik nem teljesen egyenértékűek, közülük csak egy képes a vörösvértestekhez kötődni. Ilyen típusú lektin pl. a *Phaseolus vulgaris* 1s-típusú lektinjé is. Egyes lektinek nem mutatnak eritrocita-agglutinációt, de limfocita stimuláló hatásuk van [23].

Több lektin agglutinációs aktivitásához elengedhetetlen bizonyos fémionok jelenléte pl. a Con-A esetében  $\text{Ca}^{++}$  és  $\text{Mn}^{++}$ .

Hasonlóan az izoenzimekhez, a lektinek esetében is kimutatható több fajban izolektinek jelenléte. Pl. a *Helix pomatia* albumin-mirigyéből izolált lektin érzékeny módszerekkel, pl. izoelektromos fókuszálással 12 izolektinre szeparálható [60]. A *Helix*-lektin heterogenitása valószínűleg annak köszönhető, hogy a molekulakomplexet alkotó polipeptid láncból több, kissé eltérő génen szintetizálódó példány készül el, s ezek a különböző izolektinek esetében más és más variációban alkotják a tetramer-komplexet.

Közeli rokon növényfajokból izolált lektinek, mint pl. a hüvelyes lektinek, immunológiailag keresztreakciót adnak egymás antitestjeivel. Ez a tény arra utal, hogy evolúciós szempontból szoros kapcsolatban levő fehérjékről van szó. Valószínűleg homológ fehérjék [21].

Bizonyos lektinek egyszerű cukrokhoz, monoszaharidákhoz képesek kötődni. Mások diszaharidákhoz ill. oligoszaharidákhoz kötődnek. Ismét az evolúciós kapcsolatra utal az a tény, hogy rokon növényi fajokból származó lektinek hasonló jellegű cukorkomponensekhez kötődnek. A *Solanaceae*-lektinek (pl. a paradicsom, *Datura stramonium*, burgonya-lektin) oligoszaharida specifikitással rendelkeznek. Molekulasúlyuk tág határok között mozog. Pl. a búzasíra-lektin mólsúlya 23 000, a limabab-lektiné pedig 265 000.

A leggyakrabban használt lektinek jellemzőit a II. táblázat szemlélteti.

### A lektinek szeparálása

A lektinek szeparálására általában alkalmazható minden, általánosságban használt biokémiai fehérje-szeparálási eljárás. Mivel cukorspecifikus fehérjékről van szó, a legfinomabb tisztítási eljárásoknak az affinitás-kromatográfiai eljárások bizonyulnak. Ilyenkor megfelelő adszorbenshez kovalens kötéssel hozzákapsolják a kérdéses cukorligandot, s ez az adszorbens-oszlop specifikusan megköti a cukorspecifikus lektint, melyet ezután a cukrot tartalmazó pufferoldattal eluálni lehet. (Pl. Con-A szeparálható affinitás-kromatográfiával Sephadexen, mivel a dextrán-gél monomerjeihez, melyek glukóz-derivátok, képesek hozzákötődni. Sepharose-hoz, amely galaktóz-molekula alegységekből felépült agaróz-gél, galaktóz-specifikus lektinek, pl. a *Ricinus communis*-lektin képes kötődni. Szója-lektint viszont csak liganddal konjugált Sepharose-on, N-aminokaproil- $\beta$ -D-galaktopiranozilamin-Sepharose-on lehet affinitás-kromatográfiával tisztítani.)

*II. táblázat*  
*A leggyakrabban használt lektinek fő jellemzői*

Table 2. Main characteristics of most frequently used lectins

	Ligand	Molekulasúly
<i>PISUM SATIVUM</i>	D-glukóz; D-mannóz; L-szorbóz; Metil- $\alpha$ -D-mannozyd; N-acetil-D-glukózamin	107 000 (dimer) I: 54 000 II: 53 000
<i>CANAVALIA ENSIFORMIS</i>	Glukóz és derivátjai; Mannóz és derivátjai; Fruktofuranozidok	110 000 (pH 7,2-n) 55 000 (pH 4,5-n)
<i>LENS CULINARIS</i>	$\alpha$ -D-glukóz és derivátjai; $\alpha$ -D-mannóz és derivátjai; N-acetil-D-glukózamin	49 000 (dimer)
<i>ARACHIS HYPOGAEA</i>	D-galaktóz és derivátjai (a galaktóznak nem-redukáló terminális pozíciójának kell lennie)	108 000 (pH 7-en) tetramer
<i>HELIX POMATIA</i>	N-acetil-D-galaktózamin; N-acetil- $\beta$ -D-galaktózamidok; N-acetil- $\beta$ -D-glukózamidok	79 000 $\pm$ 4000 (trimer)
<i>GLYCINE MAX</i>	N-acetil- $\beta$ -D-galaktózaminidok; $\beta$ -D-galaktopiranozidok	120 000 (pH 7-en) (tetramer)
<i>PHASEOLUS VULGARIS</i>	N-acetil-galaktózamin és derivátjai, oligomerjei	128 000 (pH 7-en) (tetramer)
<i>DATURA STRAMONIUM</i>	N-acetil-glukózamin oligomerek	85 000 (dimer) I: 40 000 II: 45 000
<i>LIMULUS POLYPHEMUS</i>	N-acetil-neuraminsav; N-glukozil-neuraminsav	340 000 (dodekamer) 28 000 (alegység)
<i>PHYTOLACCA AMERICANA (POKE WEED MITOGEN)</i>	—	30 000
<i>DOLICHOS BIFLORUS</i>	N-acetil-D-galaktózamin	110 000
<i>RICINUS CUMMUNIS (RICIN 60)</i>	D-galaktóz; N-acetil-D-galaktózamin; D-fukóz	60 000
<i>RICINUS CUMMUNIS (RICIN 170)</i>	D-galaktóz	120 000
<i>TRITICUM VULGARE</i>	N-acetil-glukózamin és derivátjai	36 000 (dimer) 18 000 (monomer)
<i>ULEX ENROPEUS</i>	L-fukóz	46 000

Bizonyos esetekben a specifikusan agglutinálódó vörösvértesteket használják fel adszorbensnek, majd felületükről szintén a megfelelő cukrot tartalmazó oldattal választják le a tiszta lektinfrakciót. Hátránya ennek az eljárásnak az, hogy a vörösvértestekről leválhatnak az eljárás során bizonyos membránfehérjék, melyek szennyezhetik a lektinpreparátumot.

Izoelektromos fókuszálással az izoelektinek eltérő izoelektromos pontjuk alapján szétválaszthatók.



## A lektinek előfordulása és *in situ* funkciói különböző organizmusokban

Az első tisztított és karakterizált lektinek növényi — főleg hüvelyesek magjaiból izolált — lektinek voltak. Mivel ezekben a magokban nagy mennyiségben fordultak elő, viszonylag egyszerű eljárással sikerült nagy mennyiséget előállítani. A biokémiai preparatív módszerek fejlődése, valamint lektin-szerű funkciókat betöltő fehérjék jelenlétének feltételezése alapján sok más organizmusból, szubcelluláris organellumokból sikerült izolálni, s részben karakterizálni lektineket. Az alábbiakban néhány, jelenleg már elfogadhatóan tisztázott funkcióval rendelkező lektinféleség biológiai funkciójáról nyújtunk áttekintést.

### Baktériumok

A *Myxococcus xanthus* Gram-negatív baktérium, mely komplex életciklussal rendelkezik. A sejtek ún. aggregálódási periódusában megjelenik egy új, fejlődés-specifikus fehérje, melynek lektin-szerű aktivitása van. Ez a „Myxobacterial hemagglutinin” (MBHA) agglutinálja a birka és tengerimalac vörösvértesteket, de a humán, csirke, ökör, ló vörösvértesteket nem. Az MBHA jellegzetessége, hogy nem gátolható egyszerű cukrokkal vagy aminos cukrokkal, de például fetuinnal igen. Kimutatták, hogy a gátlásért egy O-glikozidos kötéssel kapcsolt triszaharid-glikopeptid a felelős [13].

Ez az MBHA nincs jelen az ún. vegetatív sejtekben, melyek nem az ún. „fruiting médium”-ban élnek. Viszont azok a sejtek, melyek az aggregációs stádiumban vannak, vagy melyeket a „fruiting médium”-ban tartanak, nagymennyiségű MBHA-t termelnek, az összes szintetizálódó fehérje mintegy 5%-át teszi ki ez a lektin. E jelenség alapján az MBHA-t a *Myxococcus* fejlődésbiokémiai markerének tartják.

Az MBHA a sejtek oldható citoplazmatikus frakciójában akkumulálódik, s mennyisége a maximumot akkor éri el, amikor a sejtek aggregációja maximális (az ún. „fruiting body”  $10^6$ – $10^7$  sejtet tartalmaz). Feltételezik, hogy ekkor nagy lektin-mennyiség választódik ki a sejtek külső membránjára, és hozzákötődik bizonyos szénhidrát-tartalmú, fejlődési-stádiumok szerint regulált receptor struktúrákhoz, melyeknek funkcionális állapotát ily módon képes befolyásolni. Feltételezik, hogy ezen felül döntő fontosságú a sejt-sejt felismerésben, s valószínűleg a fejlődés-specifikus gén-expresszióban is [13].

### Nyálkagombák

A nyálkagombák életciklusa két fő fázisból áll. Az egyik egy ún. „non-social”, vegetatív-fázis; a másik pedig egy kohézív fázis, melyre a sejtek aggregációja a jellemző.

A *Dictyostelium discoideum* esetében a differenciálódó amóbak szoros kapcsolatban vannak a letapadási képesség kialakulásával. Ez a képesség egy szénhidrát-kötő, fejlődésreguláló fehérjével áll szoros kapcsolatban. Ezt a fehérjét sikerült izolálni, s megvizsgálni szacharida-specifitását. Vörösvértest-agglutináló hatását leginkább az N-acetil-D-galaktózamin gátolta [47].

Hasonló jellegű fehérjét izoláltak egy másik nyálkagomba fajból, a *Polysphondillum pallidum*-ból is, mely a sejtek specifikus adhézióját mediálja [48]. Ezt az alábbi megfigyelések alapján állítják: a) a sejtek felszínén található;



b) abban a stádiumban találhatók, amikor a sejtek az ún. kohézív stádiumba kerülnek, nem találhatók viszont azokban a stádiumokban, amikor a sejtek nem aggregálódnak; c) azok a cukrok, amelyek képesek ehhez a lektinhez kötődni, megakadályozzák a kohéziót, a sejtek aggregálódását; d) tisztított lektinek hozzáadása a sejtekhez fokozza a letapadást.

A két nyálkagomba-faj esetében nyilvánvalónak tűnik, hogy az aggregációs fázisban a lektin az intercelluláris adhézióban döntő szerepet játszik, bár más jellegű folyamatokban is feltételeznek bizonyos funkciókat. Feltételezik, hogy ez a lektin, mely a sejt külső felszínén elhelyezkedő ligandnak tekinthető, a szénhidrát-tartalmú receptorokkal összekapcsolódva előidézi a megfelelő sejtek összekapcsolódását. Ezt látszik alátámasztani az a tény, hogy a natív nyálkagomba-sejtek a vörösvértestekhez ezeknek szénhidrát-tartalmú membránfehérjéi által kapcsolódnak. Ezek szerint a nyálkagombák adhézív rendszerének két összetevője van: egyrészt a multivalens szénhidrátkötő fehérje, a lektin, másrészt egy szénhidrát-tartalmú fehérje, egy receptor, mely valószínűleg integráns membránfehérjéhez kapcsolódik.

### *Élesztőgombák*

A *Hansenula wingei* élesztőgombákra jellemző, hogy eltérő ivarú haploid sejtjei egymással érintkezve agglutinálódnak. Ha szuszpenziót készítünk a két eltérő ivarú törzsből, az ún. 5. és a 21. törzsből, masszív agglutinációt kapunk, mely az eltérő ivarú egyedek közötti erős kölcsönhatásra utal. Az agglutináció specifikására utal, hogy ilyen jelenség nem fordul elő sem az azonos nemű, sem a diploid hibridek között. Genetikai analízis segítségével megállapították, hogy az agglutinációs típus specifikusát egy egyszerű allél határozza meg, mely szoros kapcsolatban van az ivart meghatározó lokusszal.

Kimutatták, hogy az ellentétes nemű sejtek membránján komplementer makromolekulák helyezkednek el, melyek képesek egymáshoz erősen kötődni. Mindkét típusú molekula glikoproteinek, mannan-proteinek bizonyult, s kapcsolódásuk mechanizmusát hasonlónak ítélik meg az antigén-antitest reakciók esetében megfigyelhető mechanizmusokhoz.

A két molekulatípus közül az 5. törzsből izolált, ún. 5. faktor tekinthető lektinnek. Ez a glikoprotein 500 000 molekulasúlyú, ha a membránból izolálják. Citoplazmatikus extraktumból kivonva molekulasúlya alacsonyabb. Szukróz-grádiensben centrifugálva több alegységre bontható, s ezek az alegységek jellemezhetőek. A három legkisebb alegység, melyek szedimentációs állandója, 3,5; 6,5, ill. 9,0 S<sub>20 w</sub>, bizonyult az agglutinációs vizsgálatokban aktívnak. Ezek alapján mondható el az 5. faktorról, hogy multivalens molekula-komplexum, és sorolják a lektin kategóriába.

A 21. törzsből kivont, ún. 21. faktor specifikus sejt felszíni komponensnek bizonyult, de agglutinációs aktivitását nem sikerült megállapítani. Viszont képes az 5. faktor agglutinációs aktivitását meggátolni. A 21. faktor univalens molekula. Ezek alapján feltételezik, hogy a 21. és az 5. faktor összekapcsolódása előfeltétele a haploid, eltérő ivarú egyedek összekapcsolódásának [12].

### *Növényi lektinek*

Sok növény esetében kimutatható a lektinek igen nagy mennyiségű előfordulása. Főleg hüvelyesek magjaiban található nagy mennyiségben, de más



növényi részekből is sikerült tekintélyes mennyiségű lektint izolálni. Ezek a tények utalnak arra, hogy a növények életében a lektinek fontos szerepet betöltő fehérjék. Több elképzelés is van a lektinek pontos funkcióját illetően. Egyesek feltételezik, hogy a lektinek a növényi szervezetben mint antitestek működnek, semlegesítenek bizonyos káros talajbaktériumokat, gombákat. A gombák elleni védelem lektinokkal való kapcsolatát a paradicsom esetében pontosan meghatározták. E növény esetében ugyanis sikerült kimutatni kitináz enzimet, lektinhez asszociálódva. Sok patogén gomba fala kitin-tartalmú, s ennek alapján feltételezik, hogy a lektin-kitináz komplex vesz részt a gombafertőzés megakadályozásában [28]. A gombák elleni védelem esetleg a gombák enzimeinek inaktiválása útján is elképzelhető, melyet a lektinek enzimekhez való kapcsolódása okozna. Másik igen lényeges szerepe a lektineknek a növényi szervezetben a cukrok transzportja, illetve tárolása. Valószínűnek tartják, hogy a magokban levő nagy mennyiségű lektin szerepe a csírázáshoz, s a növény fejlődéséhez szükséges szénhidrátok, főleg N-acetilglukózamin tartalmú szénhidrátok tárolásában van. A lektinek felelősek lehetnek az enzimeket felépítő glikopeptidok asszociálásáért, mely az aktív komplex létrejöttét eredményezi. Hasonlóan az állati szövetek differenciálódásához, a növényi szervezetekben is feltételezik a lektinek ilyen jellegű funkcióját, tehát az intercelluláris felismerési folyamatokban betöltött kulcsszerepét. Viszonylag pontos adatok vannak a hüvelyesek hajszályökerein szimbiózisban élő *Rhizobium*-fajok megkötődéséről, melyet szintén lektinek eredményeznek. Megállapították, hogy a *Rhizobium*ok a gyökérszőrkön orientáltak, egymással párhuzamosan elhelyezkedve kötődnek meg. Mivel a *Rhizobium*okon fluoreszcein-izotiocianát-(FITC)-jelzett lektinek szintén orientáltak helyezkednek el, feltételezték, hogy a kapcsolatot a hüvelyesek gyökérsajtjeinek membránján található lektinek okozzák. A *Rhizobium*ok megkötődésük után indukálják a gyökérszőrök összetekeredését, s ezáltal alakulnak ki a hüvelyesek gyökerére jellemző gümők, melyekben a nitrogénkötő szimbióta *Rhizobium*ok élnek [10].

#### Szivacsok

Az *Axinella polypoides* homogenizátumából izoláltak egy D-galaktóz-specifikus lektint. Több más tengeri szivacsból egy ún. aggregációs faktort különítették el, melynek molekulásúlya igen magas,  $10^6$  nagyságrendű, s glikoprotein-alegységekből épül fel. E lektinek funkciója, mint a legtöbb alacsonyabb organizmus esetében, a sejtek aggregálódása, valamint az ivarsejtek összekapcsolódása során a leglényegesebb [9].

#### Puhatestűek

A *Helix pomatia* lektint vércsoport-vizsgálatoknál, valamint N-acetil-D-galaktózamin tartalmú struktúrák vizsgálata, izolálása során rutinszerűen alkalmazzák. A lektint a csiga albuminmirigyéből vonják ki. Az albuminmirigy a tüdőscsigák esetében sok galaktánt szintetizál, tárol, ahonnan a perivitellinális folyadékba szecernálódik. Itt a petesejthez asszociálódik, s a fejlődő embrió táplálásában vesz részt. Az albuminmirigy nagy mennyiségű lektinje valószínűleg fontos szabályozó funkciót lát el a galaktán tárolásában, transzportjában [9, 20].



## Ízeltlábúak

Több faj hemolimfájából sikerült lektineket izolálni. Ezen lektineknek, mint pl. a *Limulus polyphemus* lektinje, vagy az *Androctonus australis* szaharai skorpió lektinje, fontos jellemzője, hogy más titerű oldat szükséges normál és leukémiás egyedekből származó limfociták agglutinálásához. Segítségükkel kimutathatóak a limfociták membránváltozásai. Ezenfelül általuk az emberi M és N vércsoport-determinánsok is kimutathatók [11].

Az ízeltlábúak (és több más gerinctelen törzs) lektinjainak egy lehetséges funkciója a szervezet védelme, hasonlóan a gerincesek immunológiai védelméhez.

## Gerinces-lektinek

A gerinces-lektinek két osztályát szokták megkülönböztetni:

1. Az első osztályra jellemző, hogy működésükhöz elengedhetetlen a  $\text{Ca}^{++}$  jelenléte. Molekulasúlyuk igen nagy; integráns-membránfehérjék. Ide tartozik pl. az emlős-máj lektin, mely galaktóz-specifikus [24]; vagy szintén az emlős májban található fukóz- $\alpha$ -(1 → 3)-N-acetilglukózamin-kötő lektin; a madarak májában előforduló N-acetilglukózamin-kötő lektin [44], vagy egy alveolaris makrofág-receptor, mely mannózára és glukózára specifikus [52].

A máj lektinek funkciója a feltételezések szerint, melyet több kísérleti eredmény is alátámaszt, jelentős az aszialoglikoproteinek szérumból történő kiszűrésében (bővebben lásd a membrán-lektinek fejezetben).

2. A másik gerinces-lektin osztályba alacsonyabb molekulasúlyú,  $\beta$ -galaktozid-kötő fehérjék tartoznak. Ezek specifikusak terminális galaktóz- $\beta$ -(1 → 4)-N-acetilglukózamin és galaktóz- $\beta$ -(1 → 4)-galaktóz maradékra. Ezek a lektinek extrahálhatók és gátolhatók laktózzal. Az első ilyen típusú lektint az *Electrophorus electricus* elektromos szervéből vonták ki, és jellemezték. Ennek alapján javasolták, hogy ezt a típusú lektin-osztályt nevezzék el „elektrolektin”-eknek [59]. Az elnevezést sokan nem tartják jogosnak, így nem terjedt el széleskörben.

A tisztított elektromos-szerv lektin molekulasúlya (33 000) és szaharid-specifitása pontosan megegyezik a két évvel később szeparált embrionális csirke mioblaszt lektinével [38]. Csirke esetében az embrionális fejlődés során ezek a  $\beta$ -galaktozid-kötő lektinek szabályozzák az izom fejlődését.

Kimutattak hasonló karakterű lektineket különféle borjú szövetekből, pl. szívből, tüdőből [14]. Patkány tüdőben és idegszövetben szintén kimutatták jelenlétüket. Feltételezik, hogy ezek a  $\beta$ -galaktozid-kötő fehérjék résztvesznek a sinaptogenezisben, és a mioblasztok specifikus adhéziójában és fúziójában [16]. Mivel a tüdő fejlődése során az alveolarizáció idején legnagyobb a mennyiségük, fontos szerepet tulajdonítanak ezen lektineknek a tüdőfejlődés regulálásában [42].

Úgy tűnik, ez a lektin-osztály széles körben elterjedt a gerinceseknél, de mindegyikük pontos fiziológiai funkciója még tisztázásra vár. Megalapozottnak látszik az a feltevés, hogy a sejtmembrán külső felszínén levő lektinek szerepet játszhatnak reguláló ligandok kötésében és internalizálódásában. Ezeket a folyamatokat immuncitokémiailag nyomon tudták követni. (Természetesen ez nem csak a gerincesekre vonatkozik.) Ez a mechanizmus hasonló a máj-lektinek hatásmechanizmusához.



## Membrán-lektinek

A glikokonjugátumok jelenléte a sejtmembránban már régen ismert tény. A felismerési folyamatokban tulajdonítottak nekik szerepet. Ezeket a glikokonjugátumokat, amelyek képesek más glikokonjugátumot ezek cukorkomponensei által megkötni, tekinthetjük glikokonjugátum-felismerő „receptornak” vagy cukor-specifikus fehérjéknek — tehát végsősoron lektineknek [46].

A membrán-lektinek vizsgálatának nagy lendületet adott az ASHWELL és munkatársai által végzett munkák publikálása [2, 3]. Ezek a munkák emlős májsejtek membránjából izolált lektinek pontos jellemzését, valamint fiziológiai szerepét tisztázták. A későbbiek során sok más állat- és növényfaj különböző sejtjeinek membránjából izoláltak lektineket, kezdve a baktériumoktól az emberig [34].

A cukorkötő fehérjéket, lektineket három fő szempontból vizsgálják: biológiai, biokémiai valamint citokémiai szempontból. Egyik fő teszt a membrán-lektinek kivonása során az, hogy a membrán-fragmentumok vagy a membrán-fehérjék képesek-e indukálni a vörösvértetek, vagy más sejtek agglutinációját. Ez a vizsgálati mód sok problémát vet fel. Bizonyos sejttypusok ugyanis már igen kis koncentrációjú lektin hatására agglutinálódnak, míg más sejtek ugyan ezen lektin magas koncentrációja esetén sem [34]. Mivel az agglutináció a kérdéses lektin cukorspecificitásának függvénye, bizonyos sejtek csak enzimatisz emésztés (pl. proteáz vagy glikozidáz) után agglutinálódnak, amikor is a megfelelő cukorkomponensek hozzáférhetővé válnak a lektinek számára. A membrán-lektin jelenlétének végső demonstrálása cukorkötő-képességének, valamint fizikai-kémiai paramétereinek meghatározásával történik.

A fenti kritériumoknak megfelelően csak egy emlős membrán-lektint, a máj-lektint sikerült jellemezni. E lektint affinitás-kromatográfiával sikerült tiszta formában előállítani [2, 3].

Bizonyos membrán-lektinek lehetnek vízóldékonyak, s extrahálásuk nem igényli detergensnek jelenlétét. Ilyenek a nyálkagomba-lektinek [48]. Másrészt bizonyos lektinek csak detergensnek jelenlétében szakíthatók ki a membrán lipid-kettősrétegéből [26].

1. *A májsejtek membrán-lektinjei* [34]. A specifikus cukorkötő fehérjék jelenlétére lehet következtetni abból a tényből, hogy radioaktív izotóppal jelzett glikoproteinek a szérumból gyorsan eltűnnek, és specifikus szervekben halmozódnak fel.

MORELL és munkatársai kimutatták [37], hogy az aszialoceruloplazmin perek alatt eltűnik a nyúl szérumból; míg a szialoceruloplazmin nem. Az aszialoceruloplazmin a máj parenchyma sejtjeiben halmozódik fel, a KUPFFER-sejtekben viszont nem lehet kimutatni.

Patkány májsejtek membránjából hasonló funkciójú, aszialoglikoprotein-kötő fehérjék sikerült kivonni és karakterizálni [36]. A későbbiek során ezt a lektint acetonnal kezelt nyúl-máj homogenizátumból extrahálták. Szárazanyag-súlyának 10%-a szíálsav, galaktóz, mannoz és glukózamin, melyeknek egymáshoz viszonyított moláris aránya 1 : 1 : 2 : 2. Triton X 100 detergens alkalmazásával szintén sikerült viszonylag tiszta preparátumot készíteni.

A fehérje molekulák terminális szíálsav-maradék, valamint  $\text{Ca}^{++}$  ionok jelenléte abszolút követelménynek tűnik az aszialoglikoproteinek kötésekor [40]. A lektin molekulásúlya  $2,6 \times 10^5$ -nek bizonyult, mely nátriumdodecilsulfát jelenlétében két — 48 000 és 40 000 molsúlyú — alegységre disszociál [24].



A nyúlmáj-lektin molekula 14M trilaktózáminil-glikopeptidet és 2M oligomannoilglikopeptidet tartalmaz [25].

A patkánymáj-lektint több intracelluláris membránban, pl. a Golgi-apparátus-, a sER-, a lizoszómák membránjaiban is kimutatták [43]. A májmembrán lektinek szelektíven kötik a glikoproteineket abban az esetben, ha tartalmaznak nem redukáló, s terminális pozíciójú D-galaktóz maradékot. Emellett lényeges szerepet játszik a glikoprotein fehérje része is [36]. Például míg az aszialoceruloplazmin és az aszialofetuin percek alatt eltűnik a szérumból, az aszialotiroglobulin és az aszialomakroglobulin lassabban szűrődik ki. Az aszialotranszferrin pedig a natív ceruloplazminhoz hasonló mértékben tűnik el a szérumból. Kimutatták azt is, hogy legalább két galaktozilmaradék szükséges ahhoz, hogy a keringésből egy glikoprotein molekulát lektinek megkössenek.

Újabb kimutatták, hogy a máj irányában egy másik útja is lehetséges a glikoprotein-kiszűrődésnek [56]. Ez az út különbözik a fent említett aszialoglikoproteinek esetében megismerttől. Az aszialoagalaktoorozomukoid, amely terminális, nem redukáló N-acetil-glukózámin tartalmaz, gyorsan átkerül a keringésből a májba. Ezt az eredményt alátámasztotta az a megfigyelés is, hogy a humán agalaktoglukocerebrozid gyorsan bekerül a patkány máj parenchyma és KUPFFER-sejtjeibe [55]. Nyúl májból kivontak egy fehérjét, mely mannózt képes kötni. Mannóz, N-acetilglukózámin és N-acetilmannózámin meggátolja a mannan kötődését ehhez a lektinhez [27].

Májmembrán-lektineket több más állatfajból is izoláltak az utóbbi időkben.

A csirkemáj-lektin nem köti az aszialoproteineket, ezzel szemben intenzíven megköti az aszialoagalaktoproteineket [26]. A marhamáj-lektin agglutinálja a tripszinizált nyúl vörösvértesteket, és ez az agglutináció gátolható N-acetilglukózáminnal és  $\beta$ -4-oligomerjeivel, galaktózzal viszont nem. Az egérmáj-lektin megköti a humán laktotranszferrint, mely egy fukozil- $\alpha$ -3-N-acetilglukózámin egységet tartalmaz; de nem köti meg, ha ebből az egységből a fukózt eltávolítjuk [44].

A májmembrán-lektinek jelenlétét több intracitoplazmatikus organelumban is kimutatták. E vizsgálatok érdekében először aszialoorozomukoid-konjugált adszorbensen, affinitás-kromatográfiával tiszta állapotban állították elő a lektineket. A lektinek ellen specifikus antitestet hoztak létre, s ezen antitesttel immuncitokémiailag mutatták ki a különböző organelumokon a lektin jelenlétét. Hasonló eredményeket kaptak izotóppal jelzett aszialoorozomukoid alkalmazásával is [43].

A mikroszomális frakció, a Golgi-apparátus és a sejtmembrán esetében detergens kezelés a kötőaktivitást fokozza; míg a lizoszómák kötőaktivitását egy ilyen kezelés csökkenti. A detergens-kezelés hatására végbemenő aktivitásnövekedés annak köszönhető, hogy a vizes közegben jelenlevő kötőhelyekhez képest újabb kötőhelyek tárulnak fel. A lizoszómák esetében megfigyelt aktivitás-csökkenést pedig annak tulajdonították, hogy a detergens-kezelés hatására a lizoszómából kiszabaduló enzimek degradálják a kötőhelyeket, esetleg az aszialoglikoprotein-ligandokat is. Ezzel kapcsolatban azt is kimutatták, hogy a lizoszomális membránokon a lektinek a citoszól felőli felületen találhatóak [58].

Érdekes megfigyelés volt az is, hogy a membránokon a lektinek turn over-e nem függ az aszialoglikoproteinek mennyiségétől. Ebből arra lehetett következtetni, hogy a lektin ligand kötése után a konjugátum internalizálódik, s a lizo-



szómákhhoz kerül, majd a lektin által kötött ligand gyorsan degradálódik, s a lektin ismét „működőképes” állapotba kerül. Ez a mechanizmus emlékeztet a katalitikus folyamatokra [58].

2. *Egér limfocita-membrán lektinjei.* Újabban sikerült izolálni lektineket a BALB/C egerek thymus- és lép sejtjeiből [34].

Ezeket a lektineket is agglutinációs aktivitásuk alapján mutatták ki. A lektin aktivitást nem a citoplazmatikus frakcióban, hanem csak a membránfrakció Triton X 100 detergenses extraktumából sikerült kimutatni. Sikerült részlegesen tisztítani a lektineket glutáraldehid-kezelt limfocitákhoz való adszorbeáltatással, majd a kötődött lektineket különböző egyszerű cukrokkal történő eluálással választották le. Ezek az egyszerű cukrok az alábbiak: galaktóz, mannóz, N-acetilglukózamin, N-acetilgalaktózamin. A sejtmembrán felületén citokémiai eljárással, glikozilált citokémiai markerek segítségével is sikerült kimutatni a lektineket. Fluoreszcensz festékekkel konjugált markerek segítségével kimutatták, hogy a jelölődött limfoid sejtek mennyisége nagymértékben függött az alkalmazott cukorkomponenstől, melyet glikozidos kötéssel a markerhez kapsoltak. A maximális jelölődés kb. 30% volt. Ezek alapján elmondható, hogy a lép és thymus limfocitái több szubpopulációra oszthatók abból a szempontból, hogy milyen cukorspecifitású lektineket tartalmaznak a membránjukon. Ha a fent említett fluoreszkáló markerekkel 37 °C-on inkubáljuk a sejteket, 20 perc elteltével jellegzetes sapkaképzési (capping) folyamat figyelhető meg a jelölődő sejtek esetében [34].

Ismeretes tény, hogy bizonyos lektinek a limfocitákat blasztos transzformációra készítetik. Ez az indukció a lektinek hatására bekövetkező membránfehérje mozgásokra vezethető vissza. Mivel ezen limfocitáknál a glikozilált markerek hatására hasonló jellegű fehérjecsoportosulás jön létre, megvizsgálták, ez jelent-e mitogén hatást. Az ezzel kapcsolatban elvégzett kísérletek negatív eredményeket szolgáltattak, sohasem tapasztaltak mitotikus aktivitás növekedést, bármilyen cukorkomponenst konjugáltak a markerhez, vagy ezeket bármilyen koncentrációban alkalmazták.

Egy másik módon is vizsgálták a membrán-lektinek mitózisban játszott — lehetséges — szerepét. Ekkor a limfocitákat a mitogén lektinekkel, valamint glikozilált fehérjékkel inkubálták, melyek a membrán-lektinekhez kötődni képesek. Lépsejtek esetében mannóztartalmú glikoproteint használtak, s a mitogén lektin a Con-A volt, mely szintén képes mannózhoz kötődni. A kísérletek tanulsága szerint a mannóz-konjugált lektinek, melyek hozzákötődtek a membrán-lektinekhez, nem befolyásolták a Con-A mitogén-stimulus intenzitását. Ebből következik, hogy a membrán-lektinek hasonlóan reagálnak glikozilált anyagok megkötésekor, mint a membrán-glikokonjugátumok nem-mitogén lektinek megkötésekor. Specifikus mitogén hatást csak specifikus molekula-komplexekhez kötődő, specifikus molekulák képesek előidézni.

A lép és a thymus limfoid sejtjeinek membránján levő lektinek, melyek cukorkötő képességgel rendelkeznek, nem antitest vagy antitest-szerű molekulák. Ezt igazolják az alábbiak: a) hasonló lektinek találhatóak a lépben és a thymusban is; b) a sejtek nagyobb százalékában található meg bizonyos lektinek, mint amit az antitestek esetében elvárhatnánk; c) a specifikus ligandok hozzákötődése ezekhez a fehérjékhez nem idéz elő limfocita-stimulációt.

Kizártnak tekinthető az is, hogy ezek a lektinek mint glikozidázok, vagy glikoziltranszferázok enzimatikus funkciót látnak el, mivel csak szűkebb sejtpopulációkra korlátozódik egy-egy lektin előfordulása. A lektinek szerepe a



limfociták membránján így még eléggé tisztázatlannak tűnik. Feltételezik, hogy részt vesznek bizonyos felismerési folyamatokban, mint például a limfoid sejtek megfelelő limfoid szervekben történő megtapadásánál, vagy a sejt-sejt felismerési folyamatokban a sejtmediált immunitásban. Ezen felül nem zárható ki szerepük bizonyos intracelluláris folyamatokban sem.

### A lektinek alkalmazása a sejtmembrán kutatásában

A sejtmembránok igen fontos alkotóelemeit jelentik a különböző szaharidok, glikoproteinek, glikolipidek. Kézenfekvőnek látszott a feltételezés, hogy a lektinek, melyeknek ismert cukorspecifitása van, alkalmas eszközök lehetnek ezeknek a struktúráknak a kutatásában.

További lendületet adtak azok az eredmények a lektinekkel való sejtmembrán vizsgálatoknak, melyek szerint különbség mutatkozik transzformált és normál sejtek membránjának lektin-kötő képessége között [4].

Legfontosabb feladatok e témakörben a „lektin-receptorok” számának meghatározása, valamint a felületi receptorok specifikitásának, tehát cukorkomponenseinek feltérképezése.

Ezek az adatok felvilágosítást nyújthatnak a membrán-szaharidák minőségi és mennyiségi eloszlására, valamint szerkezetére.

Különbéféle enzimatis emésztések után a glikokalixban mélyebben elhelyezkedő komponensek is vizsgálhatók ily módon.

### *Radioaktív-jelzett lektinek kötődésének meghatározása, az asszociációs-konstans*

A kötődés mértékét, ezzel párhuzamban a lektin-kötőhelyek számát radioaktív-jelzett lektinek segítségével lehet a legkényelmesebben meghatározni.

Ilyenkor a sejteket inkubálják a lektinekkel a specifikus cukor jelenlétében vagy hiányában, és a sejtek által adszorbeált radioaktivitást mérik. A két érték közötti különbség a specifikusan kötődött lektin mennyisége. Ez az érték meghatározható úgy is, hogy először cukor jelenléte nélkül inkubálják jelzett lektinekkel a sejteket, majd cukor hozzáadása után a felszabaduló aktivitást — tehát azt a lektin mennyiséget, mely specifikusan kötődött —, mérik. Az aspecifikus kötődést nem lehet teljesen kiküszöbölni a specifikus cukrokkal való leszorítással; bizonyos mennyiség továbbra is kötve marad.

A lektinek kötődését — az aspecifikust is — több tényező befolyásolja, mint pl. a pH, a hőmérséklet, az inkubálás ideje, és a lektinoldat koncentrációja. Kevés adat van, s ezek is sok esetben ellentmondásosak, a hőmérséklet hatását illetően. Több adat utal arra, hogy a magasabb hőmérsékleten (és hosszabb ideig) való inkubálás a lektinek pinocitotikus felvételéhez vezethet, ami megnöveli az aspecifikus kötődés mértékét [6, 51]. Így a méréseket alacsonyabb hőfokon (0—4 °C) és rövidebb ideig (5—15 perc) végzik.

Adott rendszerben egy bizonyos koncentrációértékig növekedik a kötött lektin mennyisége, majd ezután konstans marad. Bizonyos esetekben nem lehet telítettséget elérni [18].

A kötési kísérletek eredményeit általában mikrogramm lektin/10<sup>6</sup> sejt formában fejezik ki. Nehézséget, sok esetben pontatlanságot jelent az, hogy a sejtek alakja, mérete egy populáción belül nem egyforma. Mivel a lektinek kö-



tődése felületi, az ebből eredő eltérések pontatlanságot okozhatnak. Ezt elkerülendő, egyesek a kötött lektinek mennyiségét mikrogramm sejtfehérjére vonatkoztatják.

Két fontos paramétert kell a kötési vizsgálatoknál meghatározni. Nevezetesen a sejten levő receptorhelyek számát, valamint a kötési konstanst. A receptorhelyek számát csak akkor lehet számolni, ha elérik a telítettséget, feltételezve, hogy a receptorok száma megegyezik a kötött molekulák számával. Bár ismert a lektinekről, hogy több alegységből állnak, több kötőhellyel rendelkeznek, a számításokat úgy végzik, hogy feltételezik, ezen kötőhelyeknek csak egyike kapcsolódik a receptorhoz. Ez az állapot a telítettség esetén valószínűleg fennáll; nagyobb valószínűséggel, mint ha a telítettséget nem éri el. E tényekből következően a tényleges receptorhelyek száma a számítottnál valószínűleg magasabb.

Két egyenlet ismert a receptorhelyek, valamint a lektin és kötőhelye közötti asszociációs konstans értékeinek meghatározására:

A SCATCHARD-egyenlet [49]:

$$\frac{r}{c} = nK - rK; \quad [1]$$

STECK és WALLACH egyenlete [54]:

$$\frac{1}{r} = \frac{1}{nK} \times \frac{1}{c} + \frac{1}{n} \quad [2]$$

ahol  $r$  a kötött lektin mennyisége ( $\mu\text{g}/10^6$  sejt),  $c$  az oldatban levő szabad lektin koncentrációja ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ ),  $n$  a maximális mennyiségű lektin, melyet a sejtek kötni képesek ( $\mu\text{g}/10^6$  sejt),  $K$  pedig az asszociációs konstans.

Mindkét egyenlet esetében előfeltétel, hogy a lektinek kötődése a sejtekhez reverzibilis legyen, s kövesse a bimolekuláris reakciókra megállapított tömeghatás törvényét.

Az [1] egyenletnél az  $r/c$  értéket az  $r$  függvényében ábrázolják; az  $r/c$ -t extrapolálva 0-ra metszést ad az  $r$ -tengellyel, amely egyenlő  $n$ -el ( $\mu\text{g}/10^6$  sejt).

A [2] egyenlet esetén az  $1/r$ -t ábrázolják az  $1/c$  függvényében. Itt az  $n$  reciproka az  $1/r$  tengely metszéspont értékének, míg a metszés az  $1/c$  tengellyel a  $K$  értéket adja.

Mindkét egyenlet esetében a linearitás jelzi, hogy valóban bimolekuláris reakcióról van szó, és egyszerű egyensúlyi állandó van minden lektin-receptor kölcsönhatás esetében. Más szóval, minden lektinmolekula csak egy receptorral lép kapcsolatba, valamint minden receptor azonos affinitású a lektinhez.

A valóságban nem kapunk lineáris lefutású görbét. A SCATCHARD-analízis érzékenyebb az eltérésekre, mint a STECK—WALLACH.

A lektinek radioaktív izotóppal való jelölése során leggyakrabban a  $^{125}\text{I}$ -ot alkalmazzák, amelynek kötésekor oxidáló szerként a chloramin T-t használják [19]. Ez az eljárás igen kis fehérjemennyiségekre alkalmazható, és nagy specifikus aktivitás érhető el. A jódozás mértéke alacsony, ami kevéssé változtatja meg a lektin karakterét. Hátránya, hogy a chloramin T erőlyes oxidálószer, mely bizonyos lektinek szerkezetét megváltoztathatja. Ezért viszonylag alacsony koncentrációban alkalmazzák, rövid ideig.



A jód kötéseire oxidáló enzimek is alkalmazhatók. Pl. kiterjedten alkalmazták lektinek kötéseire a laktoperoxidázt is,  $H_2O_2$  jelenlétében [41].

Ilyen jellegű vizsgálatokból kiderült, hogy az emberi vörösvértest membránján a különböző lektineket kötő helyek száma  $10^5$  nagyságrendű. Más sejteken, mint pl. a limfocitákon ezen receptorok száma  $10^6$ — $10^7$  nagyságrendű. Sejteket proteolitikus enzimekkel vagy neuraminidázzal kezelve, sok esetben megváltozik a kötődés mértéke, de némely esetben változatlan marad. Az emésztés utáni kötődés-növekedés annak lehet a következménye, hogy a receptorokat „maszkírozó” struktúrákat a kérdéses enzim eltávolítja, s így a lektinek számára hozzáférhetővé válnak. Ha az emésztés után csökken a kötődés, az arra a tényre enged következtetni, hogy az emésztés kötő molekulákat, molekularészleteket távolított el. Ilyen jellegű vizsgálatok alapján viszonylag sok információ nyerhető a felszíni szaharidák elhelyezkedéséről.

### *Fluoreszcenz módszerek*

Egyszerű kémiai eljárással fluoreszkáló festékek köthetők a lektinekhez [32, 51], így a membránhoz való kapcsolódásuk viszonylag egyszerű módon, fluoreszcenz mikroszkóppal identifikálható; a kötődés mértéke pedig kvantitatívan meghatározható citofluoriméter segítségével. A festékek kovalens kötéssel kapcsolódnak a lektinekhez, s számottevően nem befolyásolják az eredeti kötődési paramétereket. Több, különböző színben fluoreszkáló festéket alkalmaznak lektinjelölésre, mint pl. a fluorescein-izotiocianát (FITC), rodamin. Több, különböző festékkel jelölt lektin használata esetén egy sejten több lektin kötődése is nyomon követhető. Arra is mód van, hogy a FITC-jelölt lektin identifikálása, majd pedig a kötődött lektinen levő FITC UV-fényben való kifakítása után egy másik specifitású lektint konjugáltassanak a sejthez.

Fluorescein-jelzett lektinekkel sikerült kimutatni többek közt azt, hogy a lektin-receptorok képesek elmozdulni a membrán síkjában, és a receptor-pektin kapcsolódás után először ún. patching, tehát a receptor-pektin komplexek foltokba való tömörülése, a későbbiek során pedig az ún. capping, ezeknek a komplexeknek a sejt egyik pólusára való vándorlása figyelhető meg.

Ilyen jellegű vizsgálatok során derült ki pl. az is, hogy a búzacsíra-pektin kötésében két különböző affinitású receptor vesz részt [35], valamint az, hogy amőboid mozgású sejteknél a fagocitózisban jelentős szerepet játszó kötőhelyek a sejt azon pólusán helyezkednek el, amely a mozgás irányába mutat [61].

Bizonyos lektinek kötődése a sejtmembrán azon részeihez, melyek hormonreceptorként is funkcionálnak, megindíthatja a kérdéses hormonra jellemző fiziológiai válaszreakciót. E tények ismeretében fluoreszkáló lektinek kötődése utáni fiziológiai válaszok meghatározásával egyrészt a hormonreceptorokban résztvevő membránelemek sejtfelszíni eloszlására, másrészt a receptorstruktúrák szaharid-alkotóelemeinek minőségére kaphatunk választ.

### *Elektronmikroszkópos szintű szaharida kimutatások*

Ultrastrukturális sejtfelszíni szénhidrát-vizsgálatokra egyedül a lektinek — mivel nem elektrondenz molekulák — nem alkalmasak. Szükséges tehát megfelelő kontrasztot eredményező molekulákat hozzáfűzünk kapcsolni, kovalens kötéssel. A leggyakrabban alkalmazott markerek: ferritin, valamint az elektrondenzé tehető produktumú enzimek, mint pl. a peroxidáz, mikroperoxidáz.



Újabbban hemocianint is alkalmaznak erre a célra [50]. Ezeket az ágenseket glutáraldehiddel közvetlenül a lektinekhez lehet kapcsolni. Ezen konjugátumokkal egylépcsős inkubálással láthatóvá tehető a megfelelő kötőhelyek. Ezzel párhuzamban kifejlesztettek egy ún. kétlépcsős eljárást is, főleg a Con-A kötődésének kimutatására. Itt először a lektint konjugáltatják a sejtekhez, majd ezután a kötődött lektinhez közvetlenül kötődő markereket adnak a rendszerhez. Ilyen markerek pl. a torma peroxidáz, hemocianin, élesztő mannán-vas-komplex, dextrans-vas-komplex. Búzacsíra-lektin kimutatására alkalmas markernek bizonyult a glukóoxidáz. Kolloid arany peroxidáz vagy ovomukoid komplexe is alkalmazható Con-A kimutatására [50].

Mindkét típusú eljárásnak több kényelmetlen, hátrányos tulajdonsága van. Az egylépcsős eljárás során a glutáraldehides konjugálás után igen gondos tisztítás szükséges; valamint a kívánatos 1 : 1 arányú lektin-marker konjugátumok kitermelési foka meglehetősen alacsony. A kétlépcsős eljárás során a markernek olyan szénhidrátderivátot kell tartalmaznia, mely képes megfelelő affinitással a kérdéses lektinhez kötődni. Például a torma-peroxidáz, mely tartalmaz mannóz-maradékot, képes reagálni Con-A-val, vagy a hasonló specifikitású lektinekkel, pl. lencse-lektinnel, de más lektinekkel nem. A ferritin, mely nem glikoprotein, ilyen körülmények között nem kapcsolódik a lektinekhez [50].

E fogyatékoságokat, nehézségeket elkerülendő, kifejlesztettek egy technikát, mely során ún. glikozilált citokémiai markereket alkalmaznak. Ezeket a marker-konjugátumokat cukorkomponenseknek megfelelő kontrasztot eredményező marker-molekulákhoz való kötésével állítják elő. Ez esetben elektron-denz markerként főleg ferritin és torma-peroxidáz szolgál. Természetesen ilyen jellegű konjugátumok nem csak elektron-denz markerek, hanem fluoreszkáló festékek konjugálásával is előállíthatók, fluoreszcensz mikroszkópia céljára [50].

A lektinek, melyek általában tetra- vagy hexavalens molekulák, egyrészt sejtfel-színi cukorkomponensekhez, másrészt a glikozilált markerekhez képesek kötődni. A megfelelő cukorkomponensek markerekhez való kötésével elvileg minden lektinhez kötődő konjugátum előállítható.

Elektronmikroszkópos szintű szaharida-vizsgálatok igen pontos sejtfel-színi lokalizációt tesznek lehetővé. Ilyen módon is sikerült kimutatni azt a tényt, hogy sok hormon esetében a hormon—receptor komplex kialakulását ezeknek a konjugátumoknak a mikroaggregációja, majd az egész komplex internalizálódása követi; ez lényeges lépés egy hormon hatásmechanizmusának megismerésében. Mivel lektinek kötődése bizonyos hormonreceptorokhoz az említetthez hasonló reakciókat vált ki, elektron-denz markerrel jelölt lektinek alkalmazásával ez a folyamat ultrastrukturálisan nyomonkövethető.

### *Vörösvértest-adszorpciós assay*

E módszer során lektin角度et konjugáltatnak megfelelő „lektinspecifikitású” vörösvértestekhez, s ezt a konjugátumot adják a vizsgálandó sejtekhez. A nem kötődött, aspecifikus konjugátumok kimosása után hemolizáltatják a vörösvértesteket nátriumdodecilsulfáttal, majd a felszabadult hemoglobin mennyiségét 418 nm-es fény alkalmazásával fotometriásan meghatározzák. A hemoglobin mennyiségéből jól lehet következtetni a kötődött vörösvértestek szá-



mára, tehát végsősoron a lektin-kötőhelyek számára. Hasonló eredményt ad az eljárás abban az esetben is, ha először a sejtekhez kötik a lektint, majd ezután kötik a komplexhez a megfelelő vörösvértestet [1].

### *Sejtek szeparálása lektin-affinitáskromatográfiával*

A keringésben résztvevő különféle limfoid sejteket, mint pl. T- és B-limfocitákat, lépsejteket intenzíven kutatják biokémiai és immunológiai módszerekkel, mivel ezeknek a sejteknek kulcsszerepük van az immunválaszban, fertőzések és idegen szövetelemek elleni védelemben. A kapott sok fontos eredmény értékelését nehezíti, hogy a limfoid sejtek, limfocita populációk nem egységesek, nagy különbségek mutatkoznak a sejtmembrán összetételében, s ezzel párhuzamban funkciójukban is.

Megfelelő hordozóhoz, pl. Sepharose 6 MB-hez kovalensen kapcsolt lektinek alkalmazásával a sejtek affinitáskromatográfiával a felületi szaharidmarkerek által homogén populációkra frakcionálhatók. A Sepharose 6 MB (Macro Beads) 200—300  $\mu\text{m}$ -es mérete lehetővé teszi a specifikusan nem kötődött sejtek eluálását egy indifferens pufferral. A Sepharose-lektin komplexhez kapcsolódott sejteket a kérdéses lektin specifikusának megfelelő cukorral lehet leválasztani.

Sejt-affinitáskromatográfiával sikerült kimutatni, hogy az előzőleg tisztított T-limfocita-populáció két csoportra osztható a búzacóra-lektinhez való affinitása alapján, egyik csoport magasabb affinitású, a másik csoport pedig alacsonyabb affinitású kötőhelyeket tartalmaz [35].

Az eljárás természetesen nem csak limfoid sejtek szeparálására alkalmas, alkalmazható minden sejtuszpenzióra. Ily módon szövetenyésztésből származó sejtek, szövethomogenizálás, enzimes emésztés segítségével szeparált sejtek, egysejtűek stb. membránja alapján állíthatók elő tiszta sejtpopulációk, melyek a kromatografálás után is életképesek maradhatnak, s mód van a szeparált sejteken egyéb vizsgálatok elvégzésére.

### *Lektin-receptorok, membrán-fragmentumok, membrán-glikoproteinek és -glikolipidek frakcionálása*

Az egész sejtekhez hasonlóan, ez esetben is immobilizált lektinek segítségével, affinitáskromatográfiával végzik a kérdéses partikulumok tisztítását. Ezek az eljárások előfeltételei a különböző membránkomponensek biokémiai analízisének.

Az eljárás első, igen kritikus lépése a membránok szolubilizálása. Legfontosabb követelmény, hogy ez az eljárás ne tegye tönkre a vizsgálandó partikulum biológiai aktivitását, amit azért igen nehéz elérni, mert pl. a receptorstruktúrák komplex molekulaaggregátumok, melyek a nem kellő óvatossággal végzett szolubilizálás hatására könnyen dezorganizálódnak, ami viszont megszünteti biológiai aktivitásukat.

Szolubilizáló szerként leggyakrabban detergenset alkalmaznak, mint pl. Triton 100 X nem-ions detergenst, vagy a nátriumdodecilszulfátot, nátriumdeoxikolatot. Ezek az ágensek a kovalens kötések nem szakítják fel, csak a hidrofób és ionos kötések, és így alegységekre disszociált fehérjéket eredményeznek. Bizonyos esetekben a detergens-kezelés fehérje-denaturálódáshoz vezethet. Másik hátránya a detergenseknek az, hogy aspecifikusan gátolhatják



a sejtek agglutinációját, ami viszont az agglutinációs—inhibíciós vizsgálatok eredményét teheti kétségessé, amely eljárás pedig fontos eredményeket szolgáltat a partikulumok természetére vonatkozóan.

A lítium-dijodoszalicilat szintén alkalmas szolubilizálásra, valószínűleg detergens-jellegű hatása alapján. Előnye, hogy az extrahálási folyamat után könnyen el lehet távolítani a rendszerből, s így nem zavarja az agglutinációs assay eredményét [33].

Szerves oldószerek — mint pl. a fenol vagy metanol-kloroform elegy — szintén alkalmazható bizonyos membránfehérjék izolálására [22].

A guanidin egyes fehérjéket a membránból kioldhatóvá tesz, míg mások továbbra is a membránhoz kapcsolódva maradnak [53].

Sok esetben szükség van a szolubilizált partikulumok reaggregálódásának megakadályozására. E célra főleg redukáló anyagokat alkalmaznak, pl. merkaptotetanolt, amelyek megakadályozzák az intramolekuláris diszulfidhidak kialakulását.

Proteolitikus enzimek is alkalmazhatók glikopeptidek szabaddá tételére.

A szolubilizált partikulum-elegyet ezután valamilyen specifikus lektint tartalmazó adszorbens-oszlopra helyezik. Adszorbens oszlopok készítésénél az esetek túlnyomó többségében az agaróz-géleket használják, pl. Sepharose 4 B, Sepharose 6 B. Az immobilizált lektin-adszorbens oszlopot AXÉN módszerével, cianogénbromidos aktiválás utáni lektinkötéssel állítják elő [5]. Használat előtt az oszlopokat alaposan ki kell mosni; bizonyos esetekben a mosást detergenst tartalmazó oldattal végzik, ami a kötött lektinek bizonyos mennyiségét leválasztja. Ez amiatt szükséges, hogy a nem-kovalens kötéssel kapcsolódott lektinek az oszlopról leszakadjanak, csak a kovalens kötéssel kapcsolódott lektinek maradjanak az adszorbensen.

A membrán-partikulum elegyet megfelelő átfolyási sebességgel, hőfokon és pufferrel átáramoltatják az oszlopon. A specifikus lektinhez a megfelelő cukorkomponenssel rendelkező részecskék megkötődnek, a többiek pedig akadálytalanul áthaladnak az oszlopon. Alapos mosás után a lektin specifikitásának megfelelő cukrot tartalmazó pufferral választják le a kötődött részecskéket.

Ilyen jellegű affinitáskromatográfiával sejteken és membránrészecskéken kívül természetesen igen sok más részecske is frakcionálható, pl. vírusok, intracitoplazmatikus organellumok stb.

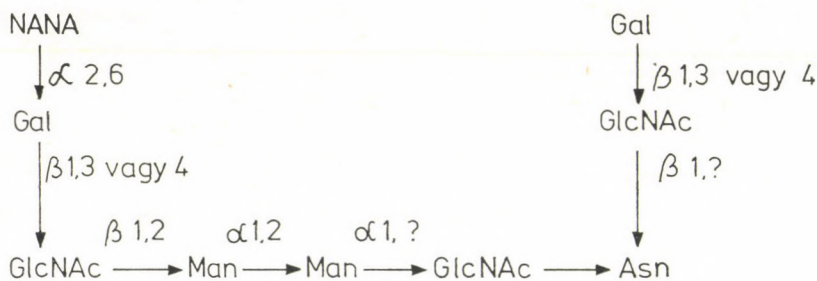
Affinitáskromatográfiával tisztított lektin-receptort, fitohemagglutinin-receptort (E-PHA-receptort) állított elő KORNFIELD [29]. Sikerült homogén formában előállítani, s részletesen megvizsgálni szerkezetét (1. ábra).

Érdekes tény, hogy az E-PHA-receptor 60 000-szer intenzívebben gátolja az E-PHA hemagglutinációs aktivitást, mint az N-acetil-D-galaktózamin; 300-szor jobban a lencselektinét, mint a D-mannóz.

Annak érdekében, hogy megállapítsák a glikopeptid lektinkötésben résztvevő részének struktúráját, szekvenciális enzimatis emésztésnek vetik alá a molekulát, s minden emésztési lépés után ellenőrzik gátló képességét. A PHA-receptor esetében a szíalsav eltávolítása a glikopeptidről nem befolyásolja az inhibíciós képességet, míg a galaktóz eltávolítása mind a deszalizált, mind a natív molekuláról a gátlóképesség 70—90%-os csökkenéséhez vezet. Ez a galaktóz kulcsszerepére utal a PHA-kötésében [30, 31].

A rendelkezésre álló információk alapján úgy tűnik, a lektin-receptorok komplex struktúrák. Ez a komplexitás magyarázza ezeknek a kötőhelyeknek többrétű biológiai aktivitását.





NANA=N-acetil-neuraminsav  
 GlcNAc=N-acetil-D-glukozamin  
 Gal=galaktóz  
 Man=mannóz  
 Asn=aszparaginsav

1. ábra. Izolált PHA receptor emberi vörösvértetstből  
 Fig. 1. PHA receptor isolated from human erythrocytes

Több, eddig még megnyugtatóan nem tisztázott kérdés merül fel a lektin-receptorokkal kapcsolatban. Pl.: Minden hasonló szaharida-specifitású lektin képes-e kötődni egy hasonló specifitású receptorhoz? A különböző sejtek hasonló specifitású receptorai azonos felépítésűek-e? Bizonyos hormonok kötőhelyei és a lektin receptorok tartalmazhatnak közös alkotóelemeket. Ez valószínűleg annak köszönhető, hogy a hormonok kötődésében cukorkomponensek is részt vesznek, természetesen nem lényegtelen a glikopeptid aminosavszekvenciája sem. Fontos információkat jelentene, ha a cukorkomponenseknek a hormonrepcióban betöltött szerepe ezúton kiderülne.

### Az adszorbción endocitózis vizsgálata

A sejtmembrán sokféle kötőhellyel rendelkezik — pl. hormon, növekedési faktor, drog, neurotranszmitter, lektin —, melyek igen sok fiziológiás, illetve patológiás folyamatban játszanak fontos szerepet.

Az adszorbción endocitózis során a sejtbe bejutó anyag először a speciális receptorokon kötődik meg, s ezután internalizálódik; szemben a pinocitózissal és fagocitózissal, ahol nem speciális receptorokon át történik egy anyag sejtbe való jutása. Az adszorbción endocitózis során egy biológiailag aktív molekula felvétele történik, a sejten belül mintegy „koncentrálódás” figyelhető meg, viszonyítva a sejt közötti nedv aktív molekulakonzentrációjához. A folyamat torna-peroxidázzal konjugált lektinek segítségével jól nyomonkövethető. E vizsgálatok alapján a lektin-receptor komplex rövid idő alatt a GERL-rendszerbe kerül. Feltételezések szerint itt a „membrán-flow” során bejutott membránrészletek a Golgi-ciszternaiban alkalmassá válnak szekréción granulumok membrán-funkciójának ellátására. Így a receptor-ligand komplex szétválás után a receptor struktúra újra a felszínre kerülve működőképes formába juthatna [17].



## Receptorok laterális diffúziós konstansának meghatározása

A SINGER-NICOLSON dinamikus folyékony membránmodell egyik bizonyítékának fogható fel, hogy a membrán gerincét képező lipid kettősrétegben a fehérje makromolekulák, s ezek komplexei, tehát a receptorok is, képesek oldalirányban elmozdulni, aggregálódni. Ez a laterális mobilitás fontos szerepet játszik bizonyos szignálok sejtbe való jutásában.

A laterális diffúzió vizsgálatát FITC-jelzett lektinek segítségével végzik. Konjugálás után a preparátumot lézer sugárral megvilágítva, a sugár átmérőjének megfelelő területen — melynek átmérője kb.  $3 \mu\text{m}$  —, a FITC elveszíti fluoreszkáló képességét. A diffúzió sebessége kiszámítható abból az időből, amely alatt ezt a kifakult foltot a fluoreszkáló FITC-receptor komplexek ismét elfoglalják. Ilyen technika alkalmazásával sikerült kimutatni pl. azt, hogy inzulin immobilizálja receptorait, s ehhez hasonló hatást mutatott a Con-A is, s hogy a Con-A immobilizáló hatása nem pusztán egyszerű kémiai kötődés, amelyet bizonyít a kötődése utáni, inzulinra jellemző fiziológiás válaszreakciók sora [63].

Hasonló jellegű eljárások bebizonyították, hogy receptor-struktúrák mozgása nem független a sejtmembrán belső oldalán levő struktúráktól. Cito-szkeletális elemek destruálása — pl. nátriumaziddal — megakadályozza a receptorok csomókba történő aggregálódását, és a sapkaképződést.

### *Emlős sejtek membránvariánsainak vizsgálata citotoxikus lektinekkel*

Citotoxikus lektinek alkalmazásával több transzformált, megváltozott fenotípusú sejtvonalból izoláltak lektin-rezisztens sejtvonalakokat, A lektinek citotoxikus hatásának pontos mechanizmusa még nem teljesen tisztázott. Az viszont valószínű, hogy a letális hatás a lektinek receptorain keresztül, sejtfelszíni szaharida struktúrákon át valósul meg.

Lektin-rezisztens sejtvonalak esetén ezek a kötőhelyek hiányoznak, változást szenvednek. E változások ismeretében a normálistól eltérő biokémiai, genetikai jellegzetességek összhangba hozhatók a membrán funkciókkal, mint pl. transzferázok hibás működése, endocitózis, ligandok kötődése a membránhoz.

A lektin-rezisztens sejtvonalak segítenek megérteni pl. a toxinok hatásmechanizmusát, a membrán szerepét a malignitásban. Ezek a sejtek sok esetben a normálistól eltérő membrán-glikozidáz aktivitást mutatnak, ez a tény viszont ezen enzimek hatásmechanizmusának, szerepének tisztázásában nyújt jól használható modellt.

Citotoxikus lektinként leggyakrabban a Con-A-t, PHA-t, ricint és a búzacsíra lektint alkalmazzák [62].

## IRODALOM

1. AIZAVA, S. and KURIMOTO, Y. (1979) Age related cell surface changes in human diploid fibroblasts revealed by lectin-mediated red blood cell adsorption assay: a lectin survey. *Mech. Ageing. Dev.*, **11**, 245—252.
2. ASHWELL, G. and MORELL, A. G. (1974) The role of surface carbohydrates in the hepatic recognition and transport of circulating glycoproteins. *In*: MEISTER, A. (ed.): *Adv. Enzymol.* John Wiley, New York, 99—128.



3. ASHWELL, G. and MORELL, A. G. (1977) Membrane glycoproteins and recognition phenomena. *Trends in Biochemical Science*, **2**, 76—78.
4. AUB, J. C., TIESLAN, C. and LANKESTER, A. (1963) Reactions of normal and tumor cell surface enzymes. I. Wheat germ lipase and associated mucopolysaccharides. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, **50**, 613—619.
5. AXÉN, R., PORATH, J. and ERNBACK, S. (1967) Chemical coupling of peptides and proteins to polysaccharides by means of cyanogen halides. *Nature*, **214**, 1302—1304.
6. BERNHARD, W. and AVRAMEAS, S. (1971) Ultrastructural visualization of cellular carbohydrate components by means of concanavalin A. *Exp. Cell. Res.*, **64**, 232—236.
7. BIRD, G. W. G. and WINGHAM, J. (1968) Seed agglutinin with specificity within the rhesus blood system. *Nature*, **219**, 653—655.
8. BOYD, W. C. and SHARPLEIGH, E. (1954) Specific precipitating activity of plant agglutinins (lectins). *Science*, **119**, 419—423.
9. BRETTING, H., STANISLAWSKY, E., BECKER, W. and KÖNIGSMAN, K. (1980) A comparative study of snail galactans with the sponge lectins of *Axinella polypoides* revealing some structural peculiarities of the *Helix pomatia* galactan. *Comp. Biochem. Physiol.*, **65 B**, 497—503.
10. BROUGHTON, W. J. (1978) Control of specificity in Legume-Rhizobium associations. A review. *J. Appl. Bacteriol.*, **45**, 165—194.
11. COHEN, E., ILODI, G. H. U., BRAHMI, Z. and MIROWADA, J. (1979) The nature of cellular agglutinins of *Androctonus australis* (Saharan scorpion) serum. *Dev. Comp. Immunol.*, **3**, 429—440.
12. CRANDALL, M. A. and BROCK, T. D. (1968) Molecular aspects of specific cell contact. *Science*, **161**, 473—475.
13. CUMSKY, M. and ZUSMAN, D. R. (1979) Myxobacterial hemagglutinin: A development-specific lectin of *Myxococcus xanthus*. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **76**, 5505—5509.
14. DE WAARD, A., HICKMAN, S., and KORNFELD, S. (1976) Isolation and properties of  $\beta$ -galactoside binding lectins of calf heart and lung. *J. Biol. Chem.*, **251**, 7581—7587.
15. ELFSTRAND (1897) Über giftige Eiweisse welche Blutkörperchen verkleben. Thesis Doct. Uppsala.
16. GARTNER, T. K. and PODLESKY, R. T. (1976) Evidence that the types and specific activity of lectins control fusion on  $L_6$  myoblasts. *Biochim. Biophys. Res. Commun.*, **70**, 1142—1149.
17. GONATAS, N. K. (1979) Immunochemistry and receptors: studies on the redistribution and adsorptive endocytosis of antiimmunoglobulin antibodies, cholera toxin and lectins. *Progress in Neuropathology*, **4**, 51—60.
18. GORDON, J. A., SHARON, N. and LIS, H. (1972) Binding of soybean agglutinin by normal and trypsin-treated red blood cells. *Biochim. Biophys. Acta*, **264**, 387—391.
19. GREENWOOD, F. C., HUNTER, H. H. and GLOVER, J. S. (1965) The preparation of  $^{131}\text{I}$ -labelled human growth hormone of high specific radioactivity. *Biochem. J.*, **89**, 114—123.
20. HAMMARSTRÖM, S. and KABAT, E. A. (1969) Purification and characterization of a blood-group A reactive hemagglutinin from the snail *Helix pomatia* and a study of its combining site. *Biochemistry*, **8**, 2696—2705.
21. HANKINS, C. N., KINDINGER, J. I. and SHANNON, L. M. (1979) Legume lectins. I. Immunological cross-reaction between the enzymic lectin from mung beans and other well-characterized legume lectins. *Plant. Physiol.*, **64**, 104—107.
22. JANSEN, V. K. and BURGER, M. M. (1973) Isolation and characterization of agglutinin receptor sites. *Biochim. Biophys. Acta*, **291**, 127—135.
23. KALADAS, P. M. and PORETZ, R. D. (1979) Purification and properties of a mitogenic lectin from *Wistaria floribunda* seeds. *Biochemistry*, **18**, 4806—4812.
24. KAWASAKI, T. and ASHWELL, G. (1976) Chemical and physical properties of an hepatic membrane protein that specifically binds asialoglycoproteins. *J. Biol. Chem.*, **251**, 1296—1302.
25. KAWASAKI, T. and ASHWELL, G. (1976) Carbohydrate structure of glycopeptide isolated from an hepatic membrane-binding protein specific for asialoglycoproteins. *J. Biol. Chem.*, **251**, 5292—5299.
26. KAWASAKI, T. and ASHWELL, G. (1977) Isolation and characterization of an avian hepatic binding protein specific for N-acetyl-glucosamine terminated glycoproteins. *J. Biol. Chem.*, **252**, 6536—6543.
27. KAWASAKI, T., ETOH, R. and YAMASHINA, I. (1978) Isolation and characterization of a mannose binding protein from rabbit liver. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **81**, 1018—1024.



28. KILPATRICK, D. C. (1980) purification and some properties of a lectin from the fruit juice of the tomato (*Lycopersicon esculentum*). *Biochem. J.*, **185**, 269—272.
29. KORNFELD, S. and KORNFELD, R. (1969) Solubilization and partial characterization of a phytohemagglutinin receptor site from human erythrocytes. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **63**, 1439—1446.
30. KORNFELD, S. and KORNFELD, R. (1970) The structure of a phytohemagglutinin receptor site from human erythrocytes. *J. Biol. Chem.*, **245**, 2536—2545.
31. KORNFELD, S. and KORNFELD, R. (1971) The structure of phytohemagglutinin receptor sites. In: JAMESON, G. A. and GREENWALT, T. J. (eds.): *Glycoproteins in blood cells and plasma*. Lippincott, Philadelphia and Toronto, 50—61.
32. LOOR, F. (1973) Lymphocyte membrane particle redistribution induced by a mitogenic capping dose of the phytohemagglutinin of *Phaseolus vulgaris*. *Europ. J. Immunol.*, **3**, 112—116.
33. MARCHESI, V. T. and ANDREWS, E. P. (1971) Glycoproteins: isolation from cell membranes with lithium diiodosalicylate. *Science*, **174**, 1247—1248.
34. MONSIGNY, M., KIEDA, C. and ROCHE, A. C. (1979) Membrane lectins. *Biol. Cellulaire*, **36**, 289—300.
35. MONSIGNY, M., SENE, C. and OBRENOVITCH, A. (1979) Quantitative fluorimetric determination of cell surface glycoconjugates with fluorescein-substituted lectins. *Eur. J. Biochem.*, **96**, 295—300.
36. MORELL, A. G., GREGORIADIS, G., SCHEINBERG, I. H., HICKMAN, J. and ASHWELL, G. (1971) The role sialic acid in determining the survival of glycoproteins in the circulation. *J. Biol. Chem.*, **246**, 1461—1467.
37. MORELL, A. G., IRVINE, R. A., STERNLIEB, I., SCHEINBERG, I. H. and ASHWELL, G. (1968) Physical and chemical studies on ceruloplasmin. Metabolic studies on sialic acid free ceruloplasmin *in vivo*. *J. Biol. Chem.*, **243**, 155—159.
38. NOWAK, T. P., KOBILER, P., ROEL, L. E. and BARONDES, S. H. (1977) Developmentally regulated lectin from embryonic chick pectoral muscle: purification by affinity chromatography. *J. Biol. Chem.*, **252**, 6026—6030.
39. NOVELL, P. C. (1960) Phytohemagglutinin: an initiator of mitosis in cultures of normal human leucocytes. *Cancer Res.*, **20**, 462—466.
40. PAULSON, J. C., HILL, R., TANABE, T. and ASHWELL, G. (1977) Reactivation of asialo rabbit liver binding protein by resialization with  $\beta$ -D-galactoside-d-2-6-sialyltransferase. *J. Biol. Chem.*, **252**, 8624—8628.
41. PHILLIPS, D. R. and MORRISON, M. (1970) The arrangement of proteins in the human erythrocyte membrane. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **40**, 284—289.
42. POWELL, J. T. (1980) Purification and properties of lung lectin. *Biochem. J.*, **187**, 123—129.
43. PRICER, W. E. and ASHWELL, G. (1976) Subcellular distribution of a mammalian hepatic binding protein specific for asialoglycoproteins. *J. Biol. Chem.*, **251**, 7539—7544.
44. PREELS, J. P., PIZZO, V. S., GLASGOW, L. R., PAULSON, J. C. and HILL, R. L. (1978) Hepatic receptor that specifically binds oligosaccharides containing fucosyl- $\alpha$ -1-3-N-acetyl glucosamin linkages. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **75**, 2215—2219.
45. RENKONEN, H. O. (1948) Studies on hemagglutinins present in seeds of some representatives of the family Leguminosae. *Ann. Med. exp. Fenn.*, **26**, 66.
46. ROSEMAN, S. (1970) The synthesis of complex carbohydrates by multiglycosyl transferase system and their potential function in intracellular adhesion. *Chem. Phys. Lipids*, **5**, 270—297.
47. ROSEN, S. D. and BARONDES, S. H. (1978) Cell adhesion in the cellular slime molds. In: GARROD, D. R. (ed.): *Receptors and recognition. Specificity of embryological interactions*. Chapman and Hall, London, 233—264.
48. ROSEN, S. D., SIMPSON, D. L., ROSE, J. E. and BARONDES, S. H. (1974) Carbohydrate binding protein from *Polyphondylium pallidum* implicated in intracellular adhesion. *Nature*, **252**, 128. and 149—151.
49. SCATHARD, G. (1949) The attraction of proteins for small molecules and ions. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **51**, 660—672.
50. SCHREVEL, J., KIEDA, C., CAIGNEAUX, E., GROS, D., DELMOTTE, F. and MONSIGNY, M. (1979) Visualization of cell surface carbohydrates by a general two-step lectin technique: Lectins and glycosylated cytochemical markers. *Biol. Cellulaire*, **36**, 259—266.
51. SMITH, C. W. and HOLLERS, J. C. (1970) The pattern of binding of fluorescein-labelled concanavalin-A to the motile lymphocyte. *J. Reticuloendothel. Soc.*, **8**, 458—464.
52. STAHL, P. D., RODMAN, J. S., MILLER, M. J. and SCHLESINGER, P. M. (1978) Evidence for receptor-mediated binding of glycoproteins, glycoconjugates and lysosomal glycosidase by alveolar macrophages. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, **75**, 1399—1403.



53. STECK, T. L. (1972) Selective solubilization of red blood cell membrane proteins with guanidine hydrochloride. *Biochim. Biophys. Acta*, **255**, 553—556.
54. STECK, T. L. and WALLACH, D. F. H. (1965) The binding of kidney-bean phytohemagglutinin by Ehrlich ascites carcinoma. *Biochim. Biophys. Acta*, **97**, 510—522.
55. STEER, C. J., FURBISH, F. S., BARRANGER, J. A., BRADY, R. O. and JONES, E. A. (1978) The uptake of agalactoglucocerebrosidase by rat hepatocytes and Kupffer cells. *FEBS Letters*, **91**, 202—205.
56. STOCKERT, R. J., MORELL, A. G. and SCHEINBERG, I. H. (1976) The existence of a second route for the transfer of certain glycoproteins from the circulation into the liver. *Biochim. Biophys. Res. Commun.*, **68**, 988—993.
57. SUMNER, J. B. (1919) The globulins of the jack bean, *Canavalia ensiformis*. *J. Biol. Chem.*, **37**, 137—142.
58. TANABE, T., PRICER, W. E. JR. and ASHWELL, G. (1979) Subcellular membrane topology and turnover of a rat hepatic binding protein specific for asialoglycoproteins. *J. Biol. Chem.*, **254**, 1038—1043.
59. TEICHBERG, V. I., SILMAN, I., BEITSCH, D. D. and RESHEFF, G. (1975) A  $\beta$ -D-galactoside binding protein from electric organ tissue of *Electrophorus electricus*. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **72**, 1383—1387.
60. VRETBLAD, P., HJORTH, R. and LAAS, T. (1979) The isolectins of *Helix pomatia*. *Biochim. Biophys. Acta*, **579**, 52—61.
61. WEINBAUM, D. L., SULLIVAN, J. A. and MANDELL, G. L. (1980) Receptors for Con-A cluster at the front of polarized neutrophils. *Nature*, **286**, 725—727.
62. WRIGHT, J. A. (1979) Membrane variants of mammalian cells resistant to cytotoxic lectins. *Int. J. Biochem.*, **10**, 951—956.
63. ZAGYANSKI, Y. A. and JARD, S. (1979) Does lectin-receptor formation produce zones of restricted mobility within the membrane? *Nature*, **280**, 591—594.

## BIOLOGY OF LECTINS

P. Kovács

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

Lectins are known to be proteins of plant and animal origins which bind specifically to particular saccharide residues of intracellular, cell and tissue constituents. Appropriate marker-labeled lectins have therefore been employed for the histochemical detection of particular saccharide residues at the levels of light and electron microscopy. Furthermore they have been applied in affinity chromatography for the specific isolation of receptors, cells and other components. The lectins can be employed as test objects for the analysis of the surface of normal and transformed cells, for demonstrating the mobility of receptors, internalization of hormones. They have proved to be quite useful for blood typing, and the red cells for lectin typing. In this paper we have presented a survey of this field of histochemistry and cell biology.

Some of the possible roles of lectins we have briefly presented for bacteria, slime molds, yeasts, plants, sponges, molluscs and arthropoda up to vertebrates. A special attention was devoted to the well-known liver membrane lectins and the membrane lectins of murine lymphocytes.

A kiadásért felelős az Akadémiai Kiadó igazgatója

Műszaki szerkesztő: Sándor István

A kézirat a nyomdába érkezett: 1981. II. 26. — Terjedelem: 9,45 (A/5) ív

81.9305 Akadémiai Nyomda Budapest, — Felelős vezető: Bernát György



## TARTALOMJEGYZÉK

SZEBENI JÁNOS és BÁTHORI GYÖRGY: Foszfolipid vezikulák (liposzómák) az alapkutatásban és az orvosi gyakorlatban .....	3
BOROS ILDIKÓ: A fluorid biológiai szerepe és jelentősége .....	29
KAPA ESZTER: A metamorfózis: a kétéltűek sajátos fejlődésbiológiai folyamata .....	55
KOVÁCS PÉTER: Lektin-biológia .....	83

### Terjeszti a Magyar Posta

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

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

Előfizetési díj egy évre: 52 Ft

1 szám ára: 26 Ft

Index szám: 26 073

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



Ára: 26 Ft  
Előfizetés egy évre: 52 Ft

INDEX: 26073  
ISSN: 0133-3844

INDEX

BIOLÓGIA (Budapest)  
29/1 (1981)

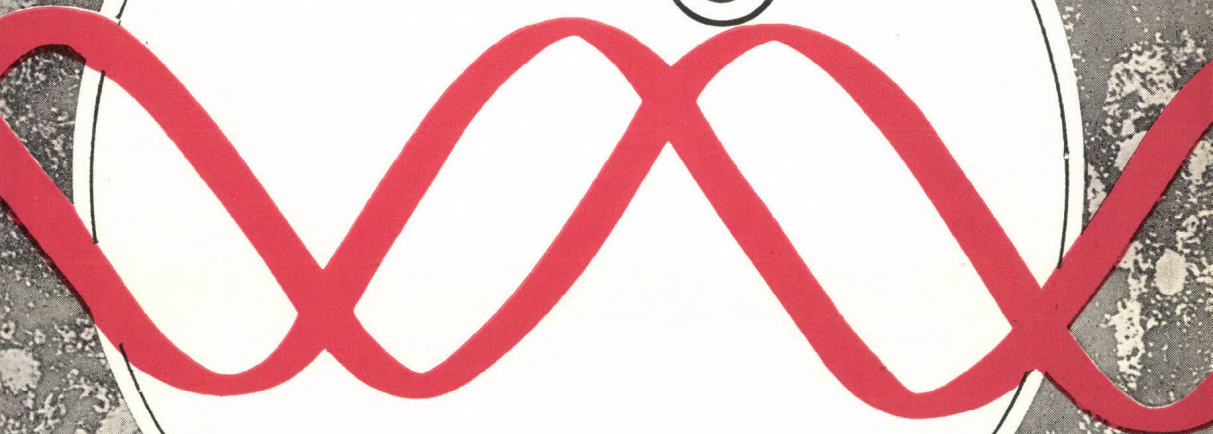
SZEBENI, J. and BÁTHORI, G.: Phospholipid Vesicles (Liposomes) in Ground Research and in Medical Practice .....	3
BOROS, ILDIKÓ: Fluoride and its Biological Significance .....	29
KAPA, ESZTER: Metamorphosis: a Problem in Developmental Biology of Amphibians ...	55
KOVÁCS, P.: Biology of Lectins .....	83



304.441



# biológia



29, 1981/2

AKADÉMIAI KIADÓ, BUDAPEST

9



## SZERZŐINK SZÍVES FIGYELMÉBE!

A BIOLÓGIA (korábban *Biológiai Közlemények*) évente két füzetet tartalmaz. Elsősorban az *elméleti és molekuláris biológia, a sejttan, örökléstan, és a 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 *könyvismertetéseket és kongresszusi beszámolókat* is közöl.

A kéziratokat — az intézmény vezetőjének jóváhagyása után — két példányban, a mellékleteket (rajzokat, fényképeket) egy példányban, a következő címre kérjük beküldeni: **BIOLÓGIA Szerkesztősége**, Dobozy Ottó technikai szerkesztő, 1445 Budapest, Nagyvárad tér 4. A cikkek elfogadásáról a Szerkesztőbizottság — a beérkezett szakértői vélemények alapján — évente két alkalommal dönt. Az elutasított dolgozatokat visszaküldjük, ill. javasoljuk más profilú laphoz való beküldését.

A dolgozatok **fejléce** tartalmazza a címet, a szerző(k) teljes nevét, az intézet és a város megnevezését, valamint a *kulcsszavakat*.

A teoretikus cikkek és az irodalmi feldolgozások **tagolása** tetszőleges. A bonyolultabb tagolású cikkekhez „*fejezetrangsort*” kell mellékelni, amelyből világosan kitűnik az egyes fejezetek egymáshoz való viszonya. A decimális fejezetszámozást lehetőleg kerüljük. Az eredeti kutatómunkát ismertető cikkeket a következőképpen kell tagolni: Bevezetés — Anyag és módszer — Eredmények — Megvitatás — Összefoglalás — Irodalom.

A szövegben dólt betűvel (amit folyamatos vonallal való aláhúzás jelöl) kell kiemelni:

- a tudományos *genus- és fajneveket*;
- az *in vivo, in vitro és a de novo kifejezéseket*;
- valamint az ábrákra, ill. a táblázatokra való hivatkozáskor azok sorszámát.

A szerzők neveit **NAGYBETŰVEL**, a ritkított szöveget *r i t k á n* kell írni.

A szövegben az irodalomra a cikkek sorszámával, vagy pedig a szerző(k) nevével és a cikk sorszámával kell hivatkozni. A cikkek sorszámát szögletes zárójelbe kell tenni.

Az **irodalomjegyzéket** sorszámozva, ABC sorrendben kell összeállítani a következő példák szerint:

A) folyóirat cikk esetén:

1. BROWN, J. (1973) Heredity and ontogeny. *Nature*, 238, 19 - 27.

B) könyv idézésekor:

1. MOURANT, A. E., KOBCEA, C. and DOMANIEVSKA-SZOBSCZAK, K. (1976) *The distribution of the human blood groups and other polymorphisms*. 2nd ed. Oxford University Press, Oxford

C) gyűjteményes mű felhasználásakor:

1. MILLER, O. L. and LEATTI, B. L. (1969) Nucleolar structure and function. In: LIMA DE FARIA, A. (ed.): *Handbook of molecular cytology*. North-Holland Publ. Comp., Amsterdam—London, 605—619.

Az irodalomjegyzékben csak azokat a szerzőket lehet feltüntetni, akikre szöveg közben hivatkozás történt.

A lapban megjelenő dolgozatokat külföldi *referáló folyóiratok* angol nyelvű összefoglalói, ill. címük alapján ismertetik. Ezért célszerű az **angol összefoglalás** informatív, szabatos fogalmazása.

Az **ábramagyarázatokat** — magyar és angol nyelven — külön lapra kell gépelni, ábránként új bekezdésben. A grafikonokat és rajzokat ábra, a fényképeket kép megjelöléssel kell sorszámozni, arab számokkal. A cikkhez mellékelte ábrák hátoldalán szerepeljen azok sorszáma és a szerző neve. Színes ábrát a Szerkesztőség nem fogad el. Külön lapon kell mellékelni a **táblázatok** magyar és angol nyelvű címét római számokkal. Az ábrák és táblázatok magyar és angol sorszámát, valamint a magyar címét folyamatos vonallal való aláhúzással kell kiemelni.

A dolgozat végén jelöljék meg a szerző nevét és munkahelyének *pontos címét* (irányítószámmal).

A megfogalmazásnál ügyeljenek a világos, magyar stílus használatára, a helyesírás kérdések eldöntésénél az MTA legújabb kiadású „A magyar helyesírás szabályai”-ban foglaltak tekintendők irányadónak.

A közlemény elfogadása esetén a szerzők megkapják a *hasáb- és a tördelt lenyomatot*. Ezen a nyomda hibájából eredő javításokat kék, a szerzői korrektúrát piros színnel kell bejelölni. A kéziratról eltérő javításokat vagy kiegészítéseket csak kivételes esetekben lehet elfogadni.

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



# BIOLÓGIA

ELMÉLETI ÉS KÍSÉRLETI BIOLÓGIAI  
FOLYÓIRAT

A szerkesztőbizottság elnöke:  
CSABA GYÖRGY

Szerkesztőbizottság:

CSÁNYI VILMOS

DOBOZY OTTÓ  
(technikai szerkesztő)

FARAGÓ ANNA

HEGYI GYÖRGY

KISZELY GYÖRGY

KOMÁROMI LÁSZLÓ

VIDA GÁBOR



AKADÉMIAI KIADÓ, BUDAPEST





## KOENZIMEK, MINT AZ ŐSI ENZIM-RNS-EK MARADVÁNYAI

KORÁNYI PÁL\* és GÁNTI TIBOR

Eötvös Lóránd Tudományegyetem Genetikai Tanszéke, Budapest

Béérkezett: 1980. október 22-én

*Kulcsszavak:* enzim-RNS, koenzimek, biogenezis, prebiológiai evolúció

### Bevezetés

A genetikai kód eredetének és evolúciójának megoldására tett számos próbálkozás ellenére a kutatásnak ezen a területen nem sikerült átütő sikert elérnie. Még azt sem mondhatjuk el, hogy a több, mint egy évtizede folyó munka megmutatta volna azt a helyes irányt, amelyen fokozatosan továbbhaladva a genetikai kód feltárható lenne, jóllehet mind elméleti [1, 2, 9, 12, 14, 29, 40, 47, 54, 66, 67, 84, 85, 86, 87], mind kísérleti oldalról [5, 35, 60, 65, 68, 75, 76, 85] számos próbálkozás jelent meg az irodalomban. Ez felveti annak lehetőségét, hogy a megközelítés módjában van alapvető hiba, ami abból eredhet, hogy mindenki a mai élő rendszerek vizsgálatából következtet visszafelé.

A genetikai kód eredetének feltárásához szerintünk kettős feladatot kell megoldani: egyrészt a korai biológiai evolúcióban működő hatékony katalizátorok természetének feltárását, másrészt ezeknek a katalizátoroknak a kapcsolatát a mai enzimfehérjékkel. Jelen cikk az első kérdéskörrel foglalkozik részleteiben.

A mai élőlényekben úgyszólván minden működés enzimfehérjék (továbbiakban  $eF$ ) révén valósul meg. A fehérjék azonban önreprodukcióra képtelenek, sőt — ellentétben EIGEN állításával [17] — az önreprodukciós képességet szerkezetük elvileg is kizárja [81]. A generációról generációra való fennmaradás szempontjából viszont csak azok a molekulák lényegesek, amelyek információtartalmukat — kisebb-nagyobb változtatásokkal — hozzájuk hasonló utódokba adhatják át. A fehérjék esetében önreprodukáló képesség hiányában tehát specifikus fehérjeszintetizáló apparátusra van szükség ahhoz, hogy enzimentulajdonosságuk biológiai szerepet tölthessen be. A fehérjeszintetizáló rendszer rendkívüli bonyolultsága azonban azt sugallja, hogy ilyen rendszer csak hosszú evolúciós folyamat végeredményeképpen jelenhetett meg, nem pedig véletlen eseményként.

*E probléma feloldható, ha nem az  $eF$ -eket akarjuk önreprodukáló tulajdonsággal felruházni, hanem feltételezzük, hogy az ősi RNS-eknek lehetett enzimaktivitásuk.* E feltételezés azért szokatlan, mert a mai RNS-ek között nem ismerünk olyat, mely kifejezett enzimaktivitást mutatna\*\*, jóllehet egyes RNS-fajták (tRNS, rRNS) hasonlóan bonyolult és specifikus térbeli molekuláris folyamatok végrehajtására alkalmasak, mint az enzimek. Ugyanakkor BREWIN

\* Jelenlegi munkahely: Fővárosi Takarító Vállalat, Budapest.

\*\* A kézirat leírása óta jelent meg ilyen közlemény: *J. Mol. Evol.*, 17, 19–26 (1981).



már 1972-ben rámutatott, hogy a transzfer RNS szerkezete (illetve ahhoz hasonló RNS-ek szerkezete) elvileg a replikáz-funkció betöltésére is alkalmas [7]. GÁNTI viszont az enzim-RNS-ek (továbbiakban eRNS) kialakulásának és térszerkezeteik evolúciójának lehetőségét a chemoton elmélet segítségével vezette le [22]. WHITE mutatott rá, hogy a koenzimek nagy része nukleotid, és hogy e nukleotid koenzimek az ősi eRNS-ek aktív centrumának reliktumai lehetnek [82].

WHITE közleménye alapján célul tűztük ki a közel 2000 számon tartott eF [34] részletes vizsgálatát abból a szempontból, hogy koenzimeik, illetve aktív csoportjaik mennyire tekinthetők eRNS-ek maradványainak. Ehhez mindenképp el kellett különítenünk azon reakciók enzimeit, amelyek származása biztosan a genetikai kód kialakulása utáni időre tehető azoktól, amelyek a legősibb, translációs apparátust feltehetően még nem tartalmazó élő rendszerekben is jelen lehettek. Ezért a koenzimeket (illetve koenzimet nem tartalmazó enzimeknél az aktív csoportot) eredetük szerint három csoportba osztottuk, megvizsgálva, hogy az egyes csoportok tagjai milyen rokonságba hozhatók a feltételezett eRNS-ekkel. Az ősi eRNS-ek szintézisével, szerkezetével és tulajdonságaival e helyen nem foglalkozunk, mert azokkal korábban foglalkoztunk [22].

### A koenzimek felosztása eredet szerint

Az evolúció során biztos fordulópontként jelölhető meg a légköri oxigénfelesleg megjelenése. A koenzimeknek az a része, amely funkciójában oxigénhez kötött, feltehetően a légkör oxidálóvá válása után kapott szerepet az anyagcserében. A koenzimek nagyobb része ennél ősbibb eredetűnek látszik. Ennek alapján a jelenleg ismert koenzimek felosztására az alábbi csoportosítást javasoljuk:

- A) az ősi — valószínűleg még a genetikai kód rögzülése előtt is jelentős szerepet játszó — koenzimek;
- B) átmeneti csoport;
- C) a fehérje-enzimek, illetve enzimrendszerek megjelenése után tért hódító folyamatokban résztvevő, újabb keletű koenzimek.

Az A csoport tagjai feltehetően még az oxigénnek az atmoszférában való megjelenése előtt, az akkori élőlények anyagcserefolyamatainak katalizálásában fontos szerepet játszottak és így minden bizonnyal szoros kapcsolatban állnak az ősi eRNS-ekkel. Vizsgálódásaink szempontjából ez a csoport döntő fontosságú. A B csoportba tartozó liponsav és biotin által közvetített folyamatok bár ősi jellegűek, mégis maguk a vegyületek valószínűleg csak az evolúció későbbi szakaszában épültek be az anyagcserébe.

A C csoportba tartozó és a légköri oxigén megjelenése után szerephez jutó koenzimeknek (kinonok, citokromok stb.) már nagy valószínűséggel semmi közük nem volt a nukleinsav-enzimes anyagcseréhez, és így a jelen tárgyalás szempontjából nem jelentősek.

Az A csoportba tartozó koenzimek és enzim-nukleinsav maradványok további rendszerezésére a következő csoportosítást látjuk megfelelőnek:

- I. tRNS-ek, rRNS-ek
- II. Nukleotid koenzimek
  - a) mononukleotid koenzimek
  - b) dinukleotid koenzimek



### III. Nukleotidokra visszavezethető, illetve azokkal rokon koenzimek

- a) a nukleotid részen kívül más kémiai alkotórészeket is tartalmazó koenzimek
- b) nukleotidokra visszavezethető ciklikus szerves bázisok
- c) aktív csoporttá vált koenzimek.

A fenti megfontolások alapján a koenzimek céljaink szerinti csoportosítását az *I. táblázatban* tüntettük fel. Néhány kisebb vagy közvetett fontosságú koenzim, illetve koenzimszerű vegyület nem szerepel a táblázatban.

#### I. Táblázat

*A koenzimek csoportosítása eredet és felépítés szerint*  
 Table 1. Classification of coenzymes regarding their origin and structure

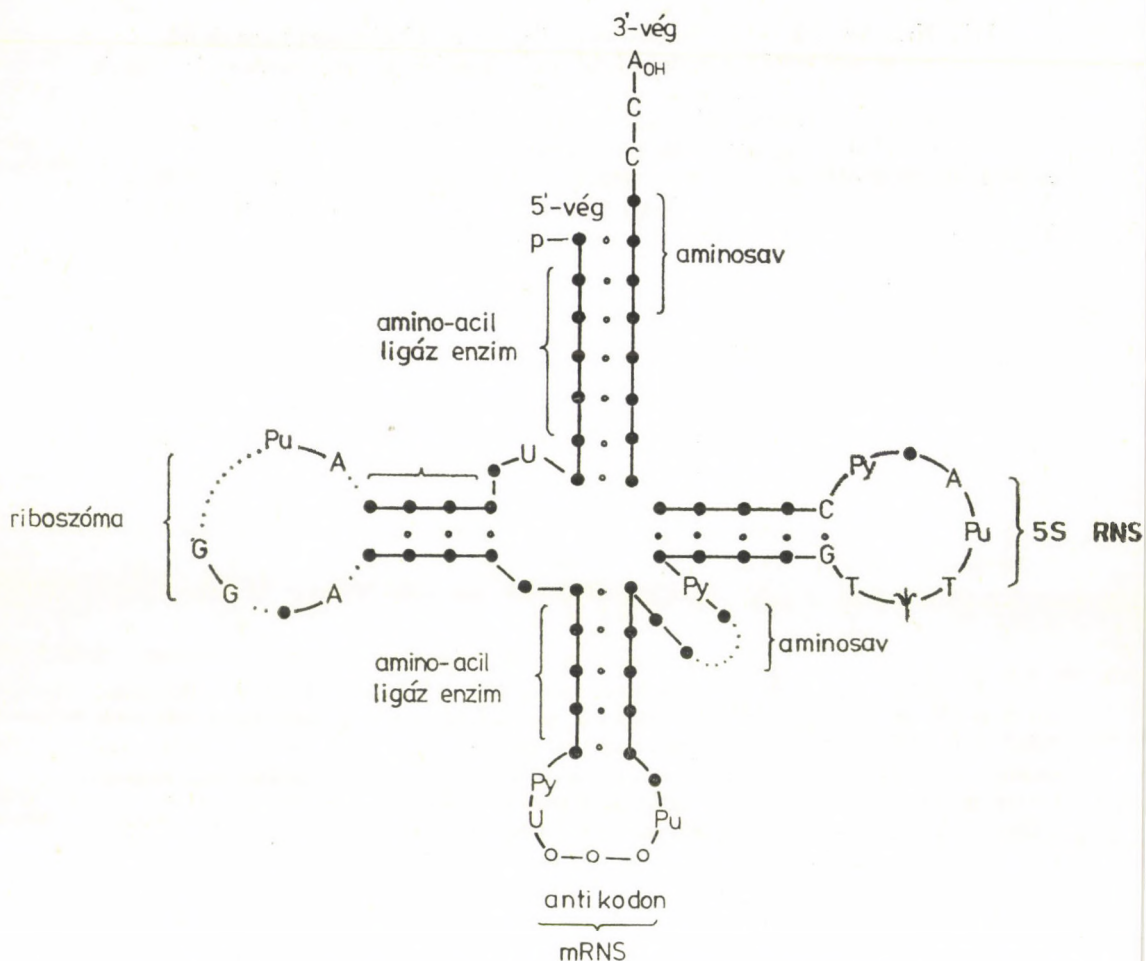
A csoport						B csoport	C csoport
I	II		III				
	a	b	a	b	c		
tRNS-ek	ATP	NAD	CoA	TPP	His	Biotin	Kinonok
rRNS-ek	GTP CTP UTP stb.	NADP FAD FMN	B <sub>12</sub>	PyrP Pterinek		Liponsav	Citokromok stb.

E munkában részletesen csak az *A* csoportbeli koenzimokkal foglalkozunk, mert a *B* és *C* csoportbeli koenzimek megjelenése feltételezhetően későbbi, mint a fehérjeszintetizáló apparátus kialakulása. Ez még a *B* csoportbeli koenzimekről is feltételezhető, hiszen a biotin és a liponsav egymással sok rokonságot mutat és mindkettő multienzim-rendszerekkel kapcsolatos, amelyek a zsírsavszintézisben vesznek részt. Ezen túlmenően a biotin koenzim jellege egyenest kétségbe is vonható. VISSER és KELLOGG [78] szerint ugyanis a biotin csupán egy „prosztetikus szubsztrát”, melynek a többi koenzimtől eltérően semmi szerepe nincs az intermedier termék stabilizálásában.

#### tRNS-ek és rRNS-ek

A *t*- és *rRNS-ek* azért kaptak helyet a táblázatban, mert ezek is az ősi eRNS-ek relikumaiként foghatók fel. Emellett bizonyos értelemben ma is van koenzimjellegű szerepük, hiszen a tRNS-ek úgy is kezelhetők, mint az aminosav-ligáz enzimek koenzimeit. Különleges térszerkezetük lehetővé teszi a többékevésbé specifikus kölcsönhatásokat más molekulákkal. Képesek megfelelő módon felismerni az RNS-eket, a szintetáz enzimeket, a riboszómákat [6, 69] és nagy valószínűséggel az aminosavakat is [4]. Az *I. ábra* azt mutatja, hogy ennek az amúgy is kicsinek számító polinukleotidnak mely részei milyen molekulákkal állnak specifikus kölcsönhatásban. A tRNS molekulák ezeken túlmenően fémionokkal is kapcsolatba lépnek.

A tRNS-ekkel kapcsolatban újabban az a gyanú merült fel, hogy jóval szélesebb körű funkciót töltenek be a mai sejtekben is, mint azt hosszú ideig gondolták [7, 18, 52, 69, 70, 81]. Ez a szerep napjainkban sincs kellőképpen tisztázva. Noha a mai rendszerekben a tRNS-ek enzimfunkciója nem ismert,

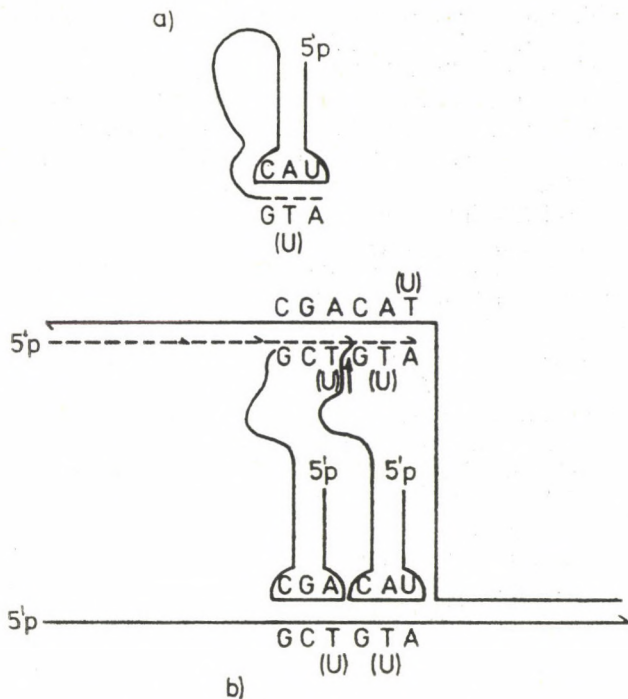


1. ábra. A tRNS-ek általános „lóhere” szerkezetének segítségével világosan szemléltethető, hogy a molekula jelenleg ismert specifikus kölcsönhatásaiért milyen intramolekuláris régiók felelősek  
 Fig. 1. The generalized t-RNA cloverleaf structure demonstrates those intramolecular regions which are responsible for the presently known specific interactions

mégis elképzelhető, hogy az evolúció adott fokán rendelkeztek azzal. CRICK szellemes megjegyzése szerint a tRNS a természet kísérlete arra, hogy fehérjeszerű nukleinsavat hozzon létre. BREWIN [7] a tRNS-eket ősi replikázoknak tekinti (2. ábra). BREWIN hipotézisét alapul véve az ősi „reverz transzkriptáz” szerepét éppen a tRNS-szerű RNS-ek tölthették be. Ez azért is érdekes, mivel bizonyos természetes virális RNS-ek DNS-be való átírásakor (tehát a gén tulajdonképpeni „megszületésekor”) a reverz transzkriptáz enzim egy meghatározott tRNS-primert igényel [52, 53].

ISHIGAMI és munkatársai szerint [32, 33] az ősi tRNS-ek olyan úgynevezett „diszkriminációs helyeket” tartalmaztak, melyek segítségével a megfelelő aminosavakat eF-ek hiányában is fel tudták ismerni. Erre a megállapításra





2. ábra. DNS/RNS replikáció, transzkripció, illetve reverz transzkripció RNS-adapter molekulák közreműködésével. a) Belső templát felhasználásával egy új DNS/RNS trinukleotid szintetizálódik az újonnan beépülő adapter polinukleotid 3'-OH végénél. b) A töltött adapter ezután kölcsönhatásba lép az „informatív” DNS/RNS szállal. Az új trinukleotid a nyíllal jelölt ponton leválik és beépül a születő polinukleotidba. Közben a töltésétől megszabadult adapter elválik a növekedési ponttól. Az ábrán az újonnan szintetizált DNS/RNS szaggatott vonallal van jelölve. (NICHOLAS BREWIN hipotézise nyomán.)

Fig. 2. DNA/RNA replication, transcription and reverse transcription by RNA adaptor molecules. a) A new DNA/RNA trinucleotide is synthesized at the 3'OH end of an adaptor polynucleotide using an internal template. b) The charged adaptor then interacts with the informative DNA/RNA chain. The new trinucleotide is excised as indicated by the arrow and transferred to the nascent polynucleotide chain. The uncharged adaptor is then released from the growing point. Newly synthesized DNA/RNA is indicated by dotted lines. (Revised hypothesis of N. BREWIN.)

némi kísérleti alátámasztás is van [4], bár a döntő bizonyítékok még hiányoznak.

A bázispárosodott régiók G—C tartalma messze felülmúlja az egyéb bázispárok előfordulási arányát, ami jól tükrözi a stabilitásra való törekvés érvényesülését az evolúció során. A funkcionális szempontból jelentős hurkokban a bázisok előfordulási gyakorisága a következő: A > G > U > C > T. Ez a megállapítás korrelációt mutat az egyes bázisok prebiotikus körülmények között végrehajtott szintézis-kísérletekben való előállíthatósági gyakoriságaival, ami véleményünk szerint további bizonyíték lehet az ősiség mellett. A t- és rRNS-ekhez hasonló (ill. azoknál egyszerűbb) struktúrák kialakulását jól értelmezi egyrészt KUHN [39] igen egyszerű elképzelése, amely szerint az azonos

kettős hélixek időről-időre kondenzációs folyamatokon mennek keresztül és így olyan szerkezetek jönnek létre, amelyekben a komplementer bázisok intramolekulárisan párosodnak. További kondenzáció a t- és rRNS-ekhez hasonló struktúrákhoz vezethet. Másrészt hasonló szerkezet kialakulásának molekuláris mechanizmusát vázolta fel GÁNTI [22] is, aki a replikáció során bekövetkező hibás kémiai kötésekéből vezette le az intramolekuláris hurkok kialakulását, ezek kondenzációjából a tRNS-szerű tercier szerkezeteket.

Az rRNS-ekről (főként 5S és 16S rRNS-ek) rendelkezésre álló adatok szerint nyilvánvaló, hogy egységes térszerkezettel rendelkeznek és számos molekulaféleséget elég nagy pontossággal tudnak felismerni (riboszomális fehérjék, mRNS-ek, tRNS-ek, specifikus enzimek stb.). Az rRNS-ek is kezelhetők úgy, mint eRNS-ek mai napig megmaradt reliktumai, amelyek méretüknél és térszerkezetüknél fogva aggregátumok létrehozására képesek (riboszómák). Ezek az RNS-aggregátumok megfelelő felületet biztosíthattak a replikáz funkció számára [39]. Az evolúció kezdetén talán a nukleinsavak replikációját segítették, később a riboszómák szerkezete megváltozott — alkalmassá váltak a fehérjeszintézis lebonyolítására és fehérjemolekulák épültek bele. (Az rRNS-ek megőrizték mRNS és tRNS-kötő funkciójukat — míg a katalitikus működést a jelek szerint az eF-ek vették át. CRICK [12] szerint a fehérjék az evolúció során átvehették volna a t- és az rRNS szerepét, ha az szelektív előnyt jelentett volna az élőlények számára. Az rRNS esetében különösen nyilvánvaló, hogy „olcsóbb” RNS-t készíteni, mint fehérjét.)

### Mononukleotid koenzimek

Az egyes nukleotidok számos mai enzimreakcióban szerepelnek koenzimként. Közülük az adenin-nukleotidok különösen nagy jelentőségűek. Energetikai szerepük mellett, mint csoportátvivő koenzimek résztvesznek a foszforsavgyök, az AMP-gyök, a szulfátcsoport és a metilcsoport közvetlen transzferjében. A cAMP fontos szerepet játszik az anyagcsere szabályozásában. A GTP szintén energiaraktározó vegyületként szerepel, azonban a GTP—GDP rendszerrel másodlagosan az ATP—ADP rendszer tart egyensúlyt. Az UDP a glikozidok és a diszaharidok szintézisében cukor- és uronsavátvivő csoportként szerepel. Emellett a cukrok izomerizálásában is részt vesz a szorosan kötött piridin-nukleotidokkal együtt. A CDP a foszfatid bioszintézis koenzime. A ciklikus nukleotidoknak és a nukleotid tetra-, illetve pentafoszfátoknak nagy jelentőségük van az RNS-ek bioszintézisében. Érdekes viszont, hogy a timinnukleotidok az anyagcserében koenzimként nem jutnak szerephez, ami ismét csak arra látszik utalni, hogy a koenzimek a legősibb, RNS-alapú anyagcsere maradványai.

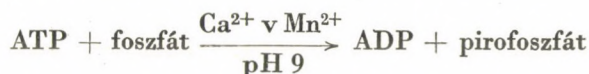
A nukleotid koenzimek a prebiotikus körülmények között keletkezettek, sőt az egyes nukleotid bázisok relatív keletkezési gyakorisága jól korrelál az anyagcserében betöltött szerepük fontosságával. Prebiotikus körülmény között szinte minden kísérletben beszámoltak az adenin képződéséről [55, 56, 57, 63, 71, 73]. Az adenin képződésének kiemelkedően nagymértékű előfordulása a prebiotikus kísérletekben kapcsolatban lehet ezen bázis (nukleotid) kiemelkedő és sokrétű biológiai funkciójával. A molekulapálya számítások szerint az adenin rezonancia-energiája a legnagyobb a nukleotidbázisok közül és így képződése is a legvalószínűbb [64]. A pirimidinek közül a citozin és az uracil



szintézisét szintén sikerült megvalósítani a megfelelő körülmények között [10, 19, 20, 77]. A timint hosszú ideig nem sikerült prebiológiai kísérletekben előállítani, ami összefüggésben lehet az RNS-felépítésében és az anyagcserében játszott jelentéktelen szerepével. Az utóbbi időben ugyan több szerző beszámolt a timin keletkezéséről szimulációs kísérletekben [11, 77], ezek az eredmények azonban nem egyértelműek. A nukleozidok prebiotikus kialakulása továbbra is problémát jelent. A ribóz minden más pentóznál könnyebben megkapható [44]. Az  $\alpha$ -citidin képződéséről SANCHEZ és ORGEL [74] számolt be. A nukleozidok foszforilációjára nézve sok adat áll rendelkezésre [3, 41, 42, 55, 58, 62, 63, 79]. Ezekből azonban az is kitűnik, hogy a legősbibb nukleinsavak (nukleotidok) felépítése a maiaktól eltérő is lehetett.

*A fentiek alapján a különböző nukleotidok akár koenzimként is rendelkezésre állhattak az ősi eRNS-eknek, akár az RNS-molekulán belül vagy a láncvégen, annak alkatrészeként fejthették ki funkcióikat.* A szubsztrát- és reakcióspecifitást az RNS térszerkezete biztosíthatta, de bizonyos szelektivitást maguknál a koenzim molekuláknál is megfigyelhetünk. A trifoszfátok foszforilcsoportjai és a fémionok között kialakuló komplexek alakja, valamint stabilitása befolyásolja a trifoszfátcsoportok hasadási helyét és így a reakció természetét. Az egyes nukleotidok bizonyos reakciókban igen nagy specificitással vesznek részt — míg máskor helyettesíthetik egymást.

LOWENSTEIN [43] fedezte fel, hogy vizes közegben meghatározott kétértékű kationok jelenlétében az ATP-ion terminális foszfátcsoportja szervesen foszfátokra, illetve más megfelelő akceptorra megy át:



A fentihez hasonló nem enzimés transzfoszforiláció játszódik le a hidroxipatit struktúrával rendelkező kalcium foszfát kristályok felületén is, ha azok ATP vizes oldatával vannak érintkezésben [38]. Ebben az esetben a kristályhoz tartozó foszfát az akceptor. Kalcium, foszfát és bizonyos polifoszfátok kölcsönhatása során vizes közegben frissen precipitált amorf kalciumfoszfát igen hatékony transzfoszforilációs közeget jelent az ATP és az ADP számára egyaránt [8].

### Dinukleotid koenzimek

A csoport tagjai az oxidoredukciós folyamatok H-donorjai, illetve -akceptorai. A NAD, NADP és FAD közös alkotórésze az adenin-nukleotid, amelyhez egy másik építőkö kapcsolódik.

A NAD és NADP-ben levő nikotinsav-amid is kielégíti a nukleotid-bázissokkal szemben támasztott követelményeket (szerves, ciklikus, N-tartalmú bázis, amelyhez foszfáttal észterezett ribóz kapcsolódik). Érdekes, hogy ez a nukleotid külön is előfordul az élők világában, mint például az élesztőkben [48]. A nikotinsavnak és származékainak prebiotikus szintézise bizonyított [21]. A nikotinsav-amid jelenléte az ősóceánban lehetővé tette a NAD és NADP szintézisét, ennek folytán a mai oxidoredukciós folyamatokkal analóg mechanizmusok már a föld korai kémiai evolúciójában kifejlődhettek.

A flavin-nukleotidok (FAD, FMN) felépítésében a ciklikus, N-tartalmú izoalloxazin vesz részt, ami egy pteridin származék (lásd később). A hozzá



kapcsolódó ribitolt foszfát észteresíti. Az alloxazin és származékai prebiológiai és biológiai szintézise még nem tisztázott, de a pteridinek tárgyalásánál még visszatérünk rá. Valószínű, hogy a biokémiai szintézisük a purin-származékokból indul és így ezek is visszavezethetők a nukleinsavakban található bázisokra a szintézis tekintetében is [48].

A NAD és a NADP molekulából a redox reakció szempontjából csak a piridin gyűrűnek van jelentősége, míg a foszfát csoport és a sav-amid csoport valószínűsége az enzimmolekulához való kapcsolódást biztosítja. A dinukleotid másik tagjának, az adeninnek a hozzá koordinálódó fémmionnal együtt fontos szerepe van a fehérjéhez való kapcsolódásban, a szubsztrát megkötésében, és irányításában [80]. A NAD és NADP molekula számos olyan részt tartalmaz, amely a különböző struktúrák felismerésében játszik szerepet. A két koenzim eltérő előfordulása a biokémiai folyamatokban mutatja, hogy ez a felismerés eléggé specifikus. Ezek a molekulák a mai rendszerekben nem kapcsolódnak szorosan az enzimek fehérjéhez, hanem csak a reakció idejére alakul ki laza (NAD—E—S) komplex. Úgy néz ki, hogy a fehérjemolekulák a ténylegesen lejátszódni tudó oxidoredukciós folyamatok spektrumát represszálják.

A NAD és a NADP prebiotikus előfordulása magyarázható úgy, hogy a nukleotid-imidazolidok prebiotikus szintézisét olyan reakcióúton keresztül képzeljük el, amelyiknek egyik intermedierje vagy közvetlenül NAD, vagy egy NAD-szerű vegyület [25]. Ezek ily módon közvetlenül a két foszfátcsoporton keresztül kapcsolódó dinukleotidot szolgáltatnák.

A FAD esetére is érvényesek a NAD(P)-re vonatkozó fenti megfontolások. Az izoalloxazin gyűrű reverzibilis redox rendszerként működik — míg a másik nukleotid a molekula többi részével specifikus kölcsönhatásokban vesz részt. A többé-kevésbé erősen kötött fémmionoknak (Fe, Cu, Mn, Mo) itt is fontos szerep jut. A fémkelátok képzésére képtelen származékoknak biológiai aktivitásuk nincs. Ezek a vegyületek a környezet megfelelő periodikus változásai esetén képesek konszekutív oxidációra, illetve redukcióra fehérjék nélkül is.

*A dinukleotid koenzimek, de legalábbis a NAD és NADP tehát szintén koenzimek vagy aktív csoportjai lehetnek az ősi eRNS-eknek.* Ez azonban jelenlegi tudásunk szerint a FAD-dal kapcsolatban se nem bizonyítható, se nem cáfolható.

### Nukleotidon kívül más csoportot is tartalmazó koenzimek

A koenzimek egy csoportja — eltérően a dinukleotidoktól — az egy vagy több mononukleotidon kívül azoktól kémiaiag teljesen eltérő összetevőket is tartalmaz. Ide tartoznak az acetil-, illetve az acil-csoportok átvitelében szereplő CoA és a főleg karboxil-áthelyezésben résztvevő B<sub>12</sub> koenzim.

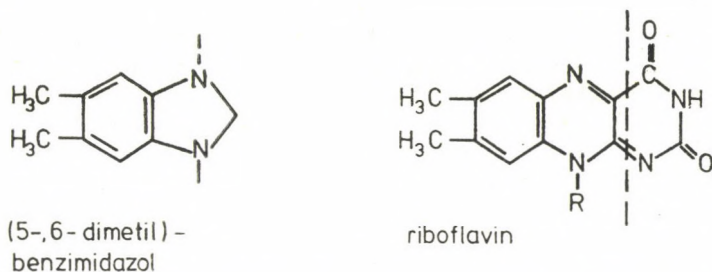
A CoA egy komplett ADP-ből és annak terminális foszfátjához kapcsolódó panteteinből épül fel. A pantetein pantoinsavból, béta-alaninból és ciszteaminből felépülő összetett vegyület, melynek evolúciós és biokémiai jelentősége egyelőre ismeretlen. Az összetevők közül a béta-alanin prebiotikus szintézise bizonyított [49, 50]. Az átviteli reakció szempontjából fontos SH-t biztosító ciszteamin valószínűleg szintén keletkezhetett a primitív Föld körülményei között. A CoA önálló reakciójáról nem tudunk.

A B<sub>12</sub>-koenzimről kiderült, hogy két nukleotidot is tartalmaz. Egyrészt a dimetil-benzimidazol-nukleotidot, másrészt az 5'-deoxi-5'-adenozil csoportot.



(Ez utóbbit esetenként vele közel rokon vegyület, illetve  $-\text{CH}_3$  helyettesítheti.) A koenzimben levő korrin-váz igen ősi képződmény, amelynek bioszintézise evolúciós szempontból megelőzte a porfirinek bioszintézisét [23]. A tetrapirrolok prebiotikus eredetére utalnak a MILLER—UREY kísérletek is [28]. Jelenlétükről beszámoltak a meteoritokban és a holdközetekben [26, 27].

A  $\text{B}_{12}$ -koenzimben található 5'-deoxi-5'-adenozin fontos szerepet játszik a katalízisben (aktív intermediereként feltételezhetően leginkább 5'-deoxiadenozin keletkezik), és sokszor csupán meghatározott rokon csoportokra cserélhető ki a katalitikus aktivitás megtartásával [30]. A dimetil-benzimidazol-nukleotid meglepően hasonlít az izoalloxazinban levő gyűrűkondenzációhoz. Különösen a rajta levő metilcsoportok helyzete — összevetve a flavin nukleotidok hatásos gyűrűkonfigurációjával — sugallja, hogy H-átviteli folyamatokban működhet közre (3. ábra). Szerintünk ezt támasztja alá az is, hogy ez a



3. ábra. A benzimidazol és a riboflavin gyűrűkonfigurációjában, valamint metilcsoportjainak helyzetében fellelhető nagyfokú hasonlóság funkcionális rokonságra utal

Fig. 3. Molecular similarities of benzimidazole and riboflavin and especially the position of methyl groups on both compounds suggests a functional relationship

nukleotid az NMR vizsgálatok alapján nem szerepel a koenzimnek az enzimhez való kapcsolódásában [16]. Külön érdekesség, hogy a  $\text{B}_{12}$  koenzim benzimidazol gyűrűje a riboflavin egyik prekursorából származik [61], ami további bizonyíték a fenti megállapításaink mellett. PAVLOVSKAYA [59] szerint formaldehidből és ammóniumnitrátból besugárzás hatására metilimidazolok képződnek. A nukleotidok templát-polikondenzációjában is az imidazol származékok játszhattak döntő szerepet prebiotikus viszonyok között.

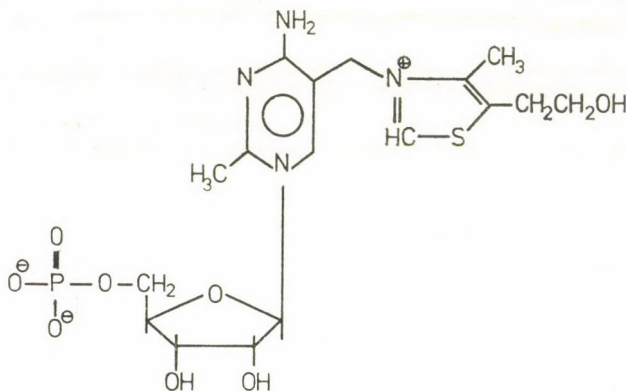
A molekula jelentőségére nemcsak ősi jellege és primitív szervezetekben való előfordulása hívja fel a figyelmet [23], hanem azok a reakciók is, amelyek kivitelezésében részt vesz (metánképződés, acetát szintézis, homocisztein  $\rightarrow$  metionin átalakulás és a nukleotid reduktaáz reakció). Ezeket figyelembe véve nagy jelentősége van annak a felfedezésnek, miszerint a homocisztein  $\rightarrow$  metionin átalakulás enzimmentes körülmények között is végbemegy [24], mivel a metanogén baktériumok metánképzési folyamata és — legalábbis távolról — a ribonukleotid reduktaáz reakció valószínűleg hasonló mechanizmus szerint játszódik le. DICKMAN [13] megállapításai szerint a nem hem-vasat tartalmazó ribonukleotid reduktaáz rendszert az evolúcióban megelőzte a kobalamin dependens rendszer. Ha ezen utóbbi folyamat fehérjementes kivitelezése lehetséges a  $\text{B}_{12}$ , illetve nukleotidok segítségével, akkor annak hatalmas jelentősége lenne az ősi DNS-gének kialakulása szempontjából, mivel HOGENKAMP és mtsai [31] szerint a ribonukleotid reduktaáz reakció gyakorlatilag irreverzibilis. Így

a nagy mennyiségben felhalmozódó dezoxiribonukleotidok megteremthették a polikondenzáció előfeltételét. Ezeket a megfontolásokat figyelembe véve válik különös jelentőségűvé az a kísérlet, miszerint az adenozil-kobalamin fiziológias körülmények között enzim hiányában mutáz típusú reakciókban vehet részt [15].

Megállapítható tehát, hogy ez a koenzim csoport is számos rokonságot mutat a prebiotikus metabolizmussal. Az a tény, hogy a CoA-ban előforduló béta-alanin a kémiai evolúció jellegzetes terméke, de a mai anyagcserében szerepe igen alárendelt, a CoA ősi jellegét támasztja alá. A B<sub>12</sub> koenzim viszont számos vonatkozásban van kapcsolatban az ősi metabolizmussal.

### Nukleotidokhoz hasonló szerkezetű koenzimek

A nukleotidokra visszavezethető szerkezetű szerves vegyületek közül elsőként a tiamin pirofoszfátot (TPP) kell említeni, mely az alfa-ketosavak oxidatív dekarboxilezésében vesz részt. A TPP egy pirimidin származék egy tiazolium származékkal kondenzálódva. Egyetértésben WHITE elképzelésével [82] a TPP koenzim prekursoraként szereplő tiamin mononukleotid (TiMP) a 4. ábrán látható módon nézhetett ki, vagyis az ősi eRNS alkatrészként szereplő TiMP az idők folyamán leegyszerűsödött. A kémiai katalízisben közvetlenül a tiazolium gyűrű vesz részt — míg a pirimidin induktív hatásával segíti azt.



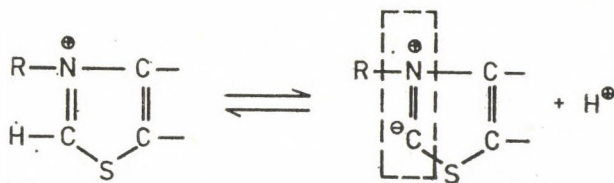
4. ábra. A feltételezett ősi tiamin mononukleotid, amely az evolúció során a mai tiamin pirofoszfát koenzimmé egyszerűsödött (WHITE [86])

Fig. 4. Thiamine mononucleotide, the evolutionary precursor of thiamine diphosphate (WHITE [86])

A tiazolium gyűrű egyszerű átrendeződésével egy cianid-ionhoz hasonló struktúra alakul ki (5. ábra), ami által a kémiai evolúcióban oly fontos cian szerepkörének egy részét átvehette a prebiológiai evolúció során.

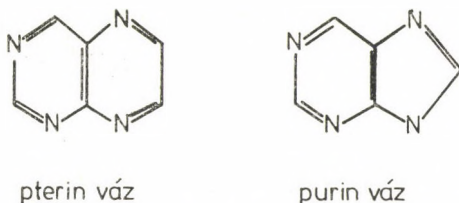
A TPP a dekarboxilezési folyamatokban vesz részt. Megfelelő körülmények között önállóan is képes olyan folyamatok katalizálására, melyek az élőlények biokémiai útjaiból ismeretesek. Ilyen például az acetoin és az acetát képződés [51, 88]. A tiamin tulajdonképpen olyan vegyületként kezelhető, amely az igen reakcióképes CN<sup>-</sup>-csoportot biológiai rendszerekben fenntartja, így ahhoz hasonlóan képes a benzoin-típusú kondenzációk katalizálására [37] is.





5. ábra. A tiazólium gyűrű egyszerű átrendeződésével cyanid ionhoz hasonló szerkezet alakul ki  
 Fig. 5. A little transformation of thiazolium moiety leads to a cyanidlike structure

Az élőlényekben található *pterinszármazékok* alapváza is hasonlít a purinvázhoz (6. ábra). Ezek is a szerves, ciklikus N-tartalmú bázisok közé tartoznak. A nem konjugált pterinek közül a xantopterin és a biopterin a legismertebb, amelyek valószínűleg H-donorként szerepelnek a hidroxilezési reakciókban.



6. ábra. Felépítésében — különösen pedig a heterociklusos N-ek helyzetében — a pterin és a purin váz nagyon hasonló

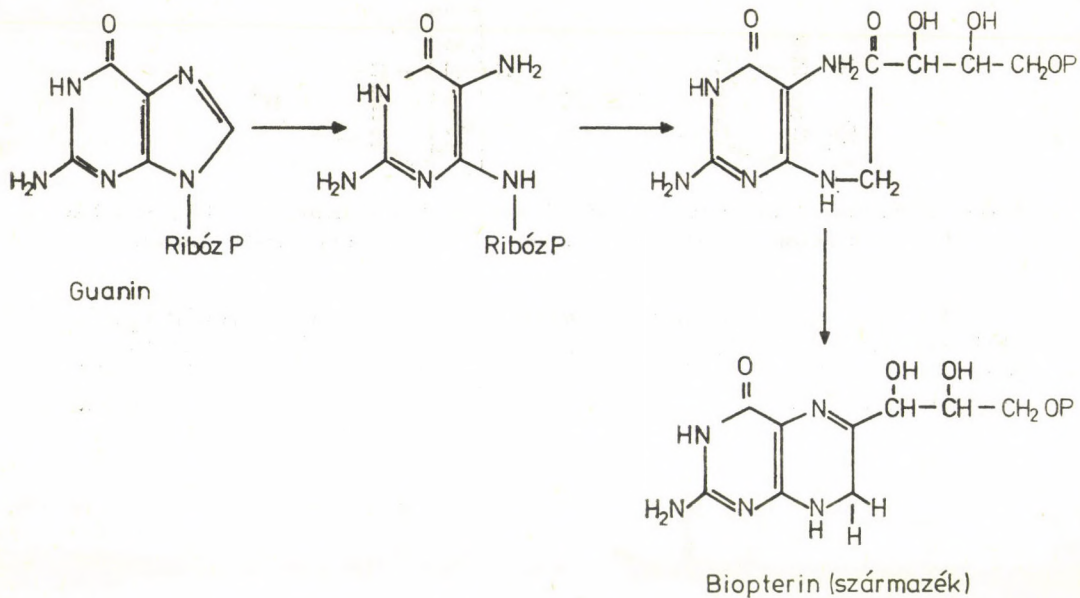
Fig. 6. The structures of pteridines and purines, especially the positions of heterocyclic nitrogens, are very similar

A pterinek nem-enzimatis oxidációra is képesek. Nukleotidbázisokkal való további rokonságukat jelzi, hogy biokémiai szintézisük is valószínűleg purin nukleotidokból indul ki [36] (7. ábra).

A konjugált pterinek közül a *fólsav* a legjelentősebb, melynek a formilcsoport átvitelében van szerepe. Ez a vegyület az alapvázon kívül még p-aminobenzoésavat és glutaminsavat tartalmaz, melyek prebiotikus előfordulása nagyon valószínű.

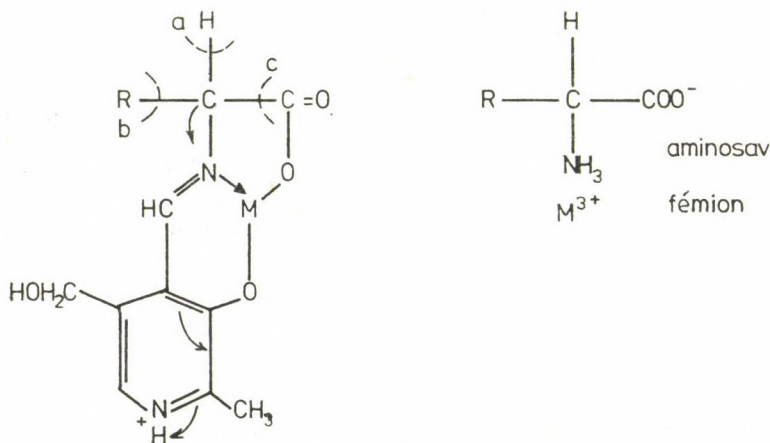
Az aminosavak számos reakcióját katalizálják a *piridoxál-foszfátot* tartalmazó enzimek (transzaminálás, racemizálás, dekarboxilezés,  $\beta$ -helyzetű hidrogén eliminációja). E folyamatok nagy része enzimmentes modellreakcióban is végbemegy piridoxál vagy más, hasonló szerkezetű aldehid és alkalmas fémion jelenlétében. Az enzimés és nem-enzimés reakciók hasonló mechanizmussal mennek végbe (8. ábra). Az aminosav szerkezetétől és a környezeti feltételektől (pH, oldószer, katalizátor stb.) függően a három kötés (a, b, c) közül más-más bomlik, illetve más-más áthelyeződés történik [46]. A piridoxálfoszfát (pyrP) a nikotinsavhoz hasonlóan piridinszármazék. Szerkezeténél fogva kielégíti a nukleotid bázisokkal szemben támasztott követelményeket, illetve a nikotinsavval való közeli rokonsága révén valószínűleg a prebiológiai kísérletekben is előállítható.

A fentiek alapján megállapítható, hogy a *koenzimek e csoportjának tagjai is mutatnak kapcsolatokat a nukleotidokkal és a prebiotikus metabolizmussal.*



7. ábra. A pterinek és így a hozzájuk felépítés szempontjából igen közel álló alloxazinok bioszintézis tekintetében valószínűleg a purin nukleotidokból vezethetők le

Fig. 7. The biosynthesis of pteridines and alloxazines probably starts out from purine nucleotides



8. ábra. A piridoxál foszfát által katalizált aminosav reakciók mechanizmusának értelmezése (METZLER és munkatársai [46])

Fig. 8. Mechanism of pyridoxal phosphate-mediated reactions of amino acids (METZLER et al. [46])



## Aktív csoporttá vált koenzimek

Ebbe a csoportba egyetlen vegyület tartozik, amely tulajdonképpen nem is koenzim, hanem az enzim aktív centrumának egy komponense. A liaz-reakciók egyik — valószínűleg az ősi körülmények között is — igen fontos osztályát katalizáló enzimek (aldolázok) reakcióiban egyáltalán nem szerepelnek nukleotidokra visszavezethető koenzimek. Aktív centrumukban viszont mindig His található, melynek imidazol-nitrogénjei egy lizil-NH<sub>2</sub> csoporttal egyetemben döntő szerepet játszanak a katalízisben. A His imidazolja szoros rokonságot mutat a nukleotid bázisokban található gyűrűkkel (purin, pirimidin stb.). Így reális az a feltételezés, hogy ez a katalízis szempontjából fontos gyűrű valamikor a nukleinsav-enzimek része volt — de szerepénél fogva a későbbiek során egy speciális aminosavba épült és nem koenzim formában maradt fenn [82]. Ezt az is alátámasztja, hogy a His az egyetlen aminosav, melynek bioszintézise egy nukleotidból (ATP) indul ki és nem kis metabolikus intermedierekből [45].

Másik elvi lehetőség is nyílik a His enzimatikus szerepének az ősi eRNS-ekből való származtatására. A katalízisben az imidazol gyűrűnek van alapvető szerepe. Ugyanakkor ismeretes, hogy a templát polikondenzáció prebiotikus körülmények között nem a nukleotid trifoszfátokból, hanem a nukleotidok imidazolil származékaiból megy a legkönnyebben.

Ily módon feltételezhető, hogy az ősi eRNS-ek ezen az úton szintetizálódnak [25]. Ez esetben az eRNS terminális nukleotidja eleve tartalmazta az imidazolil csoportot, mint funkcionális részt. Az aldolázmechanizmusban az imidazol gyűrű partnereként szereplő NH<sub>2</sub>-csoport az ősi nukleinsav-enzim gyűrűjén, vagy egy szomszédos nukleotidján helyezkedhetett el és így helyettesíthette a mai lizil-NH<sub>2</sub>-t. Az aldolázokon kívül több enzimescsoport is hisztidint tartalmaz aktív centrumában. Ilyenek a nukleázok, egyes foszfortranszferázok, dehidrogenázok, foszfolipázok, DN-ázok stb.

*Az adatok alapján tehát indokoltnak látszik, hogy a hisztidint is a nukleotidokkal rokonságot mutató koenzimek csoportjába soroljuk és a prebiotikus anyagcsere eRNS-eire vezessük vissza.*

## Diszkusszió

Az elmondottak azt mutatják, hogy ha a mintegy kétezer számontartott enzim koenzimeit közül kivesszük azokat, amelyek biztosan későbbi eredetűek a genetikai kódnál, valamint a valószínűleg későbbi eredetű, de egyébként is viszonylag szűk funkciójú biotint és liponsavat, az összes többi koenzim valamilyen módon kapcsolatba hozható a nukleinsavakkal. Egy részük közvetlenül nukleotid vagy dinukleotid, más részük nukleotidot tartalmaz úgy, hogy koenzim funkciójukban a nukleotid résznek lényeges szerepe van, ismét másoknak a szerkezete purin- vagy pirimidin-bázishoz hasonló részeket tartalmaz, így feltehető, hogy hasonló purin- vagy pirimidinszármazék is betölthetné szerepüket. Ráadásul szintézisük is a nukleinsav metabolizmussal van kapcsolatban.

E koenzimek nagy részének fehérjék távollétében is van számottevő katalitikus aktivitása, így prebiotikus körülmények között önállóan is kifejtették katalitikus funkciót. Azt sem lehet kizárni, hogy eRNS-ekkel kooperálva azok koenzimekként funkcionálhattak. Ezt különösen a dinukleotid koenzimek



esetében látszik célszerűnek feltételezni, amelyek a prebiotikus RNS szintézisben intermedierként megjelenhettek, de amelyek foszfátészter kötésük miatt az RNS-molekulákba nem épülhettek be és ma sem szerves alkotói az enzim-fehérjéknek, hanem a mindenkori koenzim-koncentráció szabja meg a komplexek kialakulását.

Az eredmények erősen sugallják, hogy a biokatalízis származási alapjai nem a fehérjék, hanem a nukleinsavak között keresendők. Még az olyan, koenzimet nem használó, nukleotidokat nem tartalmazó enzimek esetén is, mint az aldolázok, jól magyarázható a megfelelő eRNS-ek mechanizmusa a láncvégi imidazol származék jelenlétével. Vizsgálataink tehát egyrészt megerősítik WHITE hipotézisét, miszerint a jelenlegi nukleotid koenzimek az ősi eRNS-ek maradványai lehetnek, másrészt rámutatnak arra is, hogy nem minden nukleotid-koenzimet kell eRNS maradványként felfogni, közülük egyesek már a genetikai kód kialakulása előtti időben is betölthettek koenzim szerepet eRNS-ek partnereként. Az evolúció során a folyamatos átmenetet az eRNS-es katalízisből az eF-es katalízisbe éppen ezek a mai értelemben vett koenzimek tették lehetővé.

A tRNS-ekről és rRNS-ekről rendelkezésre álló adatok azt mutatják, hogy az RNS-ek is rendelkezhetnek azokkal az általános sajátosságokkal, amelyek az enzimek működéséhez szükségesek. Ezek a következők: meghatározott térszerkezet (és szekvencia), aktív csoportok meghatározott térhelyzetben, specifikus felismerő helyek, gyenge kémiai kölcsönhatások révén ideiglenes kötések kialakítása, funkcionálisan szükséges konformációváltás lehetősége stb.

Mindezek az adatok nagyon valószínűsítik azt a feltevést, hogy a genetikai kód kialakulását megelőzően létező primitív élő rendszerekben a katalitikus funkciókat nem fehérjék, hanem eRNS-ek látták el. A továbbiakban ezen eRNS-ek és a később megjelenő eF-ek között levő strukturális és funkcionális kapcsolatokat kell feltárni, melyek valószínűleg elvezetnek a genetikai kód eredetének megismeréséhez.

#### IRODALOM

1. BARRICELLI, N. A. (1977) On the origin and evolution of the genetic code. *J. Theor. Biol.*, **67**, 85–109.
2. BATCHINSKY, A. G. and RATNER, V. A. (1976) A cybernetic approach to the origin of the genetic coding mechanism II. Formation of the code series. *Origins of Life*, **7**, 229–233.
3. BECK, A., LOHRMAN, A. and ORGEL, L. E. (1967) Phosphorylation with inorganic phosphates at moderate temperatures. *Science*, **157**, 952.
4. BERMAN, T. E. (1969) *Enzyme handbook*. Vol. II. Springer-Verlag, Berlin, 137.
5. BLACK, A. (1971) A hypothesis and experiment on the origin of the genetic coding process. *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, **43**, 267–272.
6. BLAMBERG, C. (1977) A kinetic recognition process for tRNA at the ribosome. *J. Theor. Biol.*, **66**, 307–325.
7. BREWIN, N. (1972) Catalytic role for RNA in DNA replication. *Nature*, **236**, 101.
8. BURLEY, R. W. (1965) Transphosphorylation of adenosine di- and tri-phosphates in the presence of calcium phosphate precipitates. *Nature*, **208**, 683–684.
9. CHERNAVSKII, D. S. and CHERNAVSKAYA, N. M. (1975) Some theoretical aspects of the problem of life origin. *J. Theor. Biol.*, **50**, 13–23.
10. CHITTENDEN, G. J. F. and SCHWARTZ, A. W. (1976) Possible pathway for prebiotic uracil synthesis by photodehydrogenation. *Nature*, **263**, 350–351.
11. CHOUGHULEY, A. S. U., SUBBARAMAN, A. S., KAZI, Z. A. and CHODLACE, M. S. (1977) A possible prebiotic synthesis of thymine: uracil-formaldehyde-formic acid reaction. *Biosystems*, **9**, 73–80.



12. CRICK, F. H. C. (1968) The origin of the genetic code. *J. Mol. Biol.*, **38**, 367—380.
13. DICKMAN, S. R. (1977) Ribonucleotide reduction and the possible role of cobalamine in evolution. *J. Molec. Evol.*, **10**, 251—260.
14. DILLON, L. S. (1973) The origins of the genetic code. *Bot. Rev.*, **39**, 301—345.
15. DOWD, P. and SHAPIRO, J. M. (1976) A nonenzymic model intermediate for the coenzyme B<sub>12</sub> dependent isomerization of methylmalonyl coenzyme A to succinyl coenzyme A. *J. Amer. Chem. Soc.*, **98**, 3724—3725.
16. EICHORN, G. I. (ed.) (1973) *Inorganic biochemistry*. Vol. I—II. Elsevier, New York.
17. EIGEN, M. (1971) Selforganization of matter and the evolution of biological macromolecules. *Naturwissenschaften*, **58**, 465—523.
18. FARKAS, G. (1978) Hormonális szabályozás a növényvilágban In: CSABA GY. (ed.): *A biológiai szabályozás*. Medicina, Budapest.
19. FERRIS, J. P., JASHI, P. C. and LOWLESS, J. G. (1977) Chemical evolution XXIX. Pyrimidines from hydrogen cyanide. *BioSystems*, **9**, 81—86.
20. FERRIS, J. P., ZAMEK, O. S., ALTBUCH, A. M. and FREYMAN, H. (1974) Chemical evolution XVII. Synthesis of pyrimidines from guanidine and cyanoacetaldehyde. *J. Molec. Evol.*, **3**, 301—309.
21. FRIEDMANN, H. C. and MILLER, S. L. (1971) Primitive earth synthesis of nicotinic acid derivatives. *Science*, **171**, 1026.
22. GÁNTI, T. (1979) A prebiológiai evolúció értelmezése a chemoton elmélet alapján. *Biológia*, **27**, 161—175.
23. GEORGOPAPADOKOU, N. H. and SCOTT, A. I. (1977) On B<sub>12</sub> biosynthesis and evolution. *J. Theor. Biol.*, **69**, 381—384.
24. GUEST, J. R., FRIEDMAN, S., DILWORTH, M. J. and WOODS, D. D. (1964) Methylcobalamin as a source of the methyl group of methionin. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **112**, 774—790.
25. HIDVÉGI, M. (1980) A prebiológiai evolúció értelmezése a chemoton elmélet alapján. *Kézirat*.
26. HODGSON, G. W. and BAKER, B. L. (1969) Porphyrins in meteorites: metal complexes in Orgueil, Murray, Cold Bakkeveld and Makoia carbonaceous chondrites. *Geochim. Cosmochim. Acta*, **33**, 943—951.
27. HODGSON, G. W., PETERSON, E., KVENDOLVEN, K. A. BUNNENBERG, E., HALPERN, B. and PONNAMPERUMA, C. (1970) Search for porphyrins in lunar dust. *Science*, **167**, 763—765.
28. HODGSON, G. W. and PONNAMPERUMA, C. (1968) Prebiotic porphyrin genesis: porphyrins from electric discharge in methane ammonia and water vapour. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **59**, 22—28.
29. HOFFMANN, G. W. (1974) On the origin of the genetic code and the stability of the translation apparatus. *J. mol. Biol.*, **86**, 349—362.
30. HOGENKAMP, H. P. C. (1968) Enzymatic reactions involving corrinoids. *Ann. Rev. Biochem.*, **37**, 225—248.
31. HOGENKAMP, H. P. C., CHAMPER, R. K., BRAWNSON, C., BLAKLEY, R. L. and VICOLS, E. (1968) Cobamides and ribonucleotide reduction VI. Enzyme-catalyzed hydrogen exchange between water and deoxyadenosylcobalamin. *J. Biol. Chem.*, **243**, 799—808.
32. ISHIGAMI, M. and NEGANO, K. (1975) The origin of the genetic code. *Origins of Life*, **6**, 551—560.
33. ISHIGAMI, M., NEGANO, K. and TONOTSUKA, N. (1977) The origin of the protein synthesis mechanism. *BioSystems*, **9**, 229—243.
34. IUPAC-IUB (1972) *Enzyme nomenclature*. Elsevier, Amsterdam
35. JUKES, T. H. (1973) Possibilities for the evolution of the genetic code from a preceding form. *Nature*, **246**, 22—26.
36. KAUFMAN, S. (1967) Pteridine cofactors. *Ann. Rev. Biochem.*, **36**, 171—184.
37. KRAMPITZ, L. O. (1969) Catalytic functions of thiamin diphosphate. *Ann. Rev. Biochem.*, **38**, 213—240.
38. KRAVE, S. M. and GLIMCHER, M. J. (1962) Transphosphorylation from nucleoside di- and triphosphates by apatite crystals. *J. Biol. Chem.*, **237**, 2991—2998.
39. KUHN, H. (1972) Selbstorganisation molekularer Systeme und die Evolution des genetischen Apparats. *Angew. Chem.*, **84**, 838—862.
40. LACEY, J. C. and PRUITT, K. M. (1969) Origin of the genetic code. *Nature*, **223**, 799—804.
41. LEMMON, R. M. (1970) Chemical evolution. *Chem. Rev.*, **70**, 95—109.
42. LOHRMANN, R. and ORGEL, L. E. (1971) Urea-inorganic phosphate mixtures as prebiotic phosphorylating agents. *Science*, **171**, 490—494.
43. LOWENSTEIN, J. M. (1958) Transphosphorylation catalysed by bivalent metal ions. *Biochem. J.*, **70**, 222—230.



44. MARIANI, E. and TORRACA, G. (1953) The composition of formose. A chromatographic study. *Intern. Sugar. J.*, **55**, 309—311.
45. MEISTER, A. (1965) *Biochemistry of amino acids*. Vol. II. Academic Press, New York, p. 818
46. METZLER, D. E., IKOWA, M. and SNELL, E. E. (1954) A general mechanism for B<sub>6</sub>-catalysed reactions. *J. Am. Chem. Soc.*, **76**, 648—652.
47. MIKELSAAR, H. N. (1975) A concept of amino acid archeorelation: origin of life and the genetic code. *J. Theor. Biol.*, **50**, 203—212.
48. MILLER, M. W. (1961) *The Pfizer handbook of microbial metabolites*. Mc. Grow-Hill Book Company, New York, p. 490.
49. MILLER, S. L. (1955) Production of organic compounds under possible primitive earth conditions. *J. Am. Chem. Soc.*, **77**, 2351—2361.
50. MILLER, S. L. and UREY, H. C. (1959) Organic compound synthesis on the primitive earth. *Science*, **130**, 245—251.
51. MIZUHARA, S. and HANDLER, P. (1954) Mechanism of thiamine-catalysed reactions. *J. Am. Chem. Soc.*, **76**, 571—573.
52. MOELLING, K. (1975) Exciting days over for reverse transcriptase. *Nature*, **256**, 258.
53. MOELLING, K. (1976) Anything new about reverse transcriptase? *Nature*, **264**, 111—112.
54. ORGEL, L. E. (1968) Evolution of the genetic apparatus. *J. Mol. Biol.*, **38**, 381—393.
55. ORGEL, L. E. and LOHRMANN, K. (1974) Prebiotic chemistry and nucleic acid replication. *Acc. Chem. Res.*, **7**, 368—377.
56. ORÓ, L. (1960) Synthesis of adenine from ammonium cyanide. *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, **2**, 407—412.
57. ORÓ, J. and KIMBALL, A. (1961) Synthesis of purines under possible primitive earth conditions. Adenine from hydrogen cyanide. *Archs. Biochem. Biophys.*, **94**, 217—227.
58. OSTERBERG, R., ORGEL, L. E. and LOHRMANN, R. (1973) Further studies of urea-catalysed phosphorylation reactions. *J. Mol. Evol.*, **2**, 231—234.
59. PAVLOVSKAYA, T. E. (1971) Contribution from lower aldehydes to a biogenesis of biochemically important compounds. In: BUVET, R., PONNAMPERUMA, C. (eds.): *Molecular evolution*. Elsevier, New York, p. 136.
60. PELC, S. R. and WELTON, M. G. E. (1966) Stereochemical relationship between coding triplets and amino acids. *Nature*, **209**, 868—870.
61. PLAUT, G. W. E. (1970) The biochemical synthesis of nucleotides. In: FLORKIN, M. E. and STOTZ, E. H. (eds.) *Comprehensive biochemistry*. Elsevier, New York, p. 11.
62. PONNAMPERUMA, C. (1963) A possible prebiotic synthesis of purines. Abst. 19th. Int. Congr. Pure Appl. Chem., London, Pergamon Press, London
63. PONNAMPERUMA, C., SAGAN, C. and MARINER, R. (1963) Ultraviolet synthesis of adenosine triphosphate under possible primitive earth conditions. *Nature*, **199**, 222—226.
64. PULLMAN, B. and PULLMAN, A. (1962) Electronic delocalization and biochemical evolution. *Nature*, **196**, 1137—1142.
65. RASZKA, M. and MANDEL, M. (1972) Is there a physical chemical basis for the present genetic code? *J. Mol. Evol.*, **2**, 38—43.
66. RATNER, V. A. and BATCHINSKY, A. G. (1976) A cybernetic approach to the origin of the genetic coding mechanism I. Methodological principles. *Origins of Life*, **7**, 225—228.
67. REANNY, D. C. and RALPH, R. K. (1967) A speculation on the origin of the genetic code. *J. Theor. Biol.*, **15**, 41—52.
68. REUBEN, J. and POLK, F. E. (1980) Nucleotide — amino acid interactions and their relation to the genetic code. *J. Mol. Evol.*, **15**, 103—112.
69. RICH, A. (1978) Transfer RNA: Three dimensional structure and biological function. *Trends in Biochemical Sciences*, Febr. 34—37.
70. RICH, A. and RAJ BHANDARY, V. L. (1976) Transfer RNA: Molecular structure, sequence and properties. *Ann. Rev. Biochem.*, **45**, 805—860.
71. SANCHEZ, R. A., FERRIS, J. P. and ORGEL, L. E. (1966) Conditions for purine synthesis: did prebiotic synthesis occur at low temperature? *Science*, **153**, 72—73.
72. SANCHEZ, R. A., FERRIS, J. P. and ORGEL, L. E. (1966) Cyanoacetylene in prebiotic synthesis. *Science*, **154**, 784—785.
73. SANCHEZ, R. A., FERRIS, J. P. and ORGEL, L. E. (1968) Studies in prebiotic synthesis V. Conversation of 4-aminoimidazole-5-carbonitrile derivatives to purines. *J. Mol. Biol.*, **38**, 121—128.
74. SANCHEZ, R. A. and ORGEL, L. E. (1970) Studies in prebiotic synthesis V. Synthesis and photoanomerization of pyrimidine nucleotides. *J. Mol. Biol.*, **47**, 531—543.
75. SAXINGER, C. and PONNAMPERUMA, C. (1971) Experimental investigation on the origin of the genetic code. *J. Mol. Evol.*, **1**, 63—74.



76. SAXINGER, C., PONNAMPERUMA, C. and WOESE, C. R. (1971) Evidence for the interaction of nucleotides with immobilised amino acids and its significance for the origin of the genetic code. *Nature*, **234**, 172—174.
77. SCHWARTZ, A. W. and CHITTENDEN, G. J. F. (1978) Synthesis of uracil and thymine under simulated prebiotic conditions. In: HARUHIKO, N. (ed.): *Origin of Life*. Proc. 2. ISSOL Meeting: 1977. Bus. Cent. Acad. Soc. Japan. Tokyo, p. 205—210.
78. VISSER, C. M. and KELLOGG, R. M. (1978) Biotin. Its place and evolution. *J. Mol. Evol.*, **11**, 171—178.
79. WAHNELDT, T. V. and FOX, S. W. (1967) Phosphorylation of nucleotides with polyphosphoric acid. *Biochim. Biophys. Acta*, **134**, 1—8.
80. WALLENFELS, K. and SUND, H. (1957) Mechanism of H transfer with pyridine nucleotides V. The DPN-binding ability of alcohol dehydrogenase and zinc-alcohol dehydrogenase. *Biochem. Z.*, **329**, 59—74.
81. WATSON, J. D. (1980) *A gén molekuláris biológiája*. Medicina, Budapest
82. WHITE, H. B. (1976) Coenzymes as fossils of an earlier metabolic state. *J. Mol. Evol.*, **7**, 101—104.
83. WOESE, C. R. (1968) The fundamental nature of the genetic code: prebiotic interactions between polynucleotides and polyamino acids or their derivatives. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, **59**, 110—117.
84. WOESE, C. R. (1973) Evolution of nucleic acid replication: the possible role of simple repeating sequence polypeptides therein. *J. Mol. Evol.*, **2**, 205—208.
85. WOESE, C. R. (1973) Evolution of the genetic code. *Naturwissenschaften*, **60**, 447—459.
86. WONG, J. (1975) A co-evolution theory of the genetic code. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, **72**, 1909—1912.
87. WONG, J. (1976) Evolution of the universal genetic code. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, **73**, 2336—2340.
88. YATCO—MANZO, E., RODDY, F., YOUNT, R. G. and METZLER, D. E. (1959) The catalytic decarboxylation of pyruvate by thiamine. *J. Biol. Chem.*, **234**, 733—737.

#### COENZYMES AS REMNANTS OF ANCIENT ENZYME RIBONUCLEIC ACID MOLECULES

P. Korányi and T. Gánti

Institute of Genetics, University of L. Eötvös, Budapest, Hungary

The enzymic role of RNA-s in the prebiotic evolution have been proposed by several authors (CRICK, 1968; WHITE, 1976; etc.). A detailed mechanism for the formation and evolution of enzyme-RNA-s (eRNA) in the earliest living systems also have been suggested (GÁNTI, 1979). White pointed out that most of the contemporary coenzymes are ribonucleotides and they may be fossils of the ancient eRNA-s. We investigated the known enzymes systematically and found that practically all enzymes, the functions of which are independent of the molecular oxygen (i.e. presumably originated before the appearance of the oxidative atmosphere), use ribonucleotides or ribonucleotide-like compounds as coenzymes. The only exceptions are the lipoic acid- and biotin-enzymes. The hypothesis of WHITE that the nucleotide coenzymes are fossils of ancient eRNA-s seems to be supported by the present findings. It is not excluded, however, that these compounds may have functioned as coenzymes of the eRNA-s in the ancient metabolisms. The complete ancient eRNA-s were presumably efficient catalysts considering that most coenzymes have a well-defined catalytic activity also in the absence of proteins. Based on the molecular characteristics of RNA-s and functional polymorphism of their active groups it looks conceivable that some kinds of metabolisms could develop and operate with eRNA-s. The tRNA-s may be eRNA-s existing up till now with a function modified by the evolutionary processes.





# GÉNINTERAKCIÓK JELENTŐSÉGE EGYES EMBERI VÖRÖSVÉRSEJT ALLOANTIGÉNRENDSZEREK BIOSZINTÉZISÉBEN

(A vércsoportok felfedezésének 80. évfordulójára  
írt tanulmány.)

FÜLÖP-ASZÓDI LILI

Hajdú-Bihar Megyei Tanács Kórház-Rendelőintézet  
Megyei Vértranszfúziós Állomása, Debrecen

Beérkezett: 1980. augusztus 28-án

*Kulcsszavak:* vércsoport-gének, géninterakciók, glikoziltranszferázok,  
bioszintézis, vörösvérsejt-alloantigének

## Bevezetés

Századunk fordulóján fedezte fel LANDSTEINER [113, 114] az első emberi vércsoportokat, az AB0-nak elnevezett vércsoportrendszert. Az a tény, hogy egyes normális, egészséges egyének széruma agglutinálta vagy nem agglutinálta más egyének vörösvérsejtjeit, arra mutatott, hogy az emberi vörösvérsejtekben olyan egymástól eltérő agglutinálható anyagok vannak jelen, amelyek lehetővé teszik a vér csoportokba osztását. LANDSTEINER vizsgálataiból arra lehetett következtetni, hogy nemcsak a különböző fajok vörösvérsejtjei között léteznek immunológiai reakciókkal — hemagglutinációval és/vagy hemolízissel — kimutatható különbségek, hanem azonos fajon belül is. A vörösvérsejteken levő különböző agglutinogének miatt az egyes fajok és egy fajon belül az egyes egyének is szerológiai felismerhetők, megkülönböztethetők egymástól.

LANDSTEINERnek ezek az emberi vörösvérsejtek agglutinálható anyagainak megkülönböztetésére vonatkozó első megfigyelései tökéletesen beleillettek az életében folytatott kutatásainak fő irányvonalába: az immunitási folyamatok és a szerológiai reakciók mechanizmusának vizsgálatába, de mindenek felett az egyéni specifitást meghatározó sejtantigének kutatásába, és végül az antigének specifikálásának tanulmányozásába.

Már 1901-ben elég adattal rendelkezett ahhoz, hogy egy általánosabb érvényű biológiai koncepciót alapozzon meg a vér egyéni különbségeiről, amelyeknek egyidejűleg fontos gyakorlati jelentőséget tulajdonított a vérátömlesztés biztonságosabbá tételében. Néhány év múlva javasolta a vércsoportvizsgálat felhasználását az egyéni emberi vér azonosítására az igazságügyi orvostani gyakorlatban is. Miután a vércsoport-tulajdonság megmarad az egész élet folyamán, arra a lehetőségre is gondoltak, hogy a vércsoportok örökletes tulajdonságok lehetnek, és mint ilyenek, bizonyítékkul szolgálhatnak kérdéses apasági ügyekben.

1908-ben ismét felvetődött a vércsoportok öröklődésének gondolata, de csak 1910 után bizonyították be, hogy a vörösvérsejt-agglutinogének valóban domináns genetikai egységek kifejeződései, amelyek a MENDEL-törvények szerint öröklődnek.



A vörösvérsejt-agglutinogéneket — a vércsoport-tulajdonságok hordozóit — ma vörösvérsejt-alloantigéneknek nevezzük és tudjuk, hogy genetikailag meghatározott, antigén természetű, különböző kémiai szerkezetekről van szó, amelyek ugyanazon fajon belül az egyéni különbözőség meghatározói.

LANDSTEINER felfedezése nemcsak az emberi vörösvérsejt-alloantigének első rendszerének leírását jelenti, hanem tágabb értelemben az emberi fajon belüli genetikai variációk felismerését is. Mégpedig olyan genetikai variációkét, amelyek immunológiai módszerek alkalmazásával mutathatók ki. A vörösvérsejt-alloantigének meghatározása volt az első terület, amelyen felismerték, hogy immunológiai jelenségeket genetikai jellegek kormányozhatnak. Így született meg — 80 évvel ezelőtt — egy új tudományág: az *immungenetika*. (Nevét M. R. IRVINTől kapta 1932-ben.)

Az immungenetika tulajdonképpen az immunológiát és a genetikát kapcsolja össze, azonban önálló tudományág interdiszciplináris jelleggel. Az immungenetika több és más, mint részeinek összege, mert jelentős kérdésfelvetései, problémái specifikusak és sem tisztán immunológiai, sem tisztán genetikai szempontból nem érthetők meg és nem válaszolhatók meg. Az immungenetika foglalkozik minden olyan genetikai problémával, amelyek immunológiai módszerekkel analizálhatók és mindazokkal az immunológiai jelenségekkel, amelyeket genetikai információk kormányoznak és ezeken keresztül befolyásolhatók. Olyan tudományág tehát, ahol mind a genetika, mind az immunológia alapelvei, fogalmai és metodológiája együttesen kerülnek alkalmazásra, a három alapvető pillér: a gén, az antigén és az antitest (immunválasz) közötti bioszintetikus vagy reguláló kölcsönhatások tanulmányozására a környezettel való összefüggésben [11, 46, 57, 66, 85, 101, 193, 225].

Miután az immungenetika a vércsoportok szerény tanából nőtt ki, természetes, hogy az érdeklődés középpontjában hosszú ideig a vörösvérsejt-alloantigének és -alloantitestek állottak. A gyors fejlődés azonban magával hozta újabb és újabb celluláris vagy oldható polimorfizmusok felismerését, amelyek más véresejteken vagy fehérje- és enzim molekulákon helyezkednek el, illetőleg a testnedvekben találhatóak. Ezek olyan méretű genetikai variabilitást mutattak, hogy tulajdonképpen minden egyén szinte egyedinek tekinthető, kivéve az egyetűjű identikus ikreket.

Az immungenetikai kutatások eredményei hozzájárultak olyan különböző biológiai problémákba való bepillantáshoz, mint a transzplantációs immunológia, a daganatimmunológia, a hormonális szabályozás vagy a sejtfelismerés, a sejtkölcsönhatások, az embrionális fejlődés. A hisztokompatibilitás, az immunválasz genetikája, az antitest szintézis, a szervátültetés különböző problémáinak a tanulmányozásával az immungenetika gyakorlati jelentősége is egyre nőtt. Mint látható, az immunológia és a genetika házassága termékeny volt és gyors fejlődésének jellemzésére álljon itt STONE 1967-ben megjelent (és 1966-ban készült!) tanulmányának zárómondata: „Talán a legjobb tanúbizonysága annak, hogy az immungenetika milyen gyorsan fejlődik, az az, hogy ez a tanulmány maga is idejé múlt lesz, mire nyomtatásban megjelenik” [193].

Természetesen a vörösvérsejt-alloantigének megismerése is jelentősen fejlődött. LANDSTEINER is munkatársaival újabb vércsoportokat ismert fel immunizációs kísérleteinek eredményeként, így az MN- és az Rh-vércsoportokat. Majd ezt követően számos újabb vörösvérsejt-polimorfizmust fedeztek fel, így pl. a Lewis-, a Kell-, a Duffy-, a Kidd-, a Lutheran-rendszert és az Rh-rendszer egyre növekvő számú antigénjeit. Ha azokat az igen gyakori



vörösvérsejt-alloantigéneket is számításba vesszük, amelyek csaknem minden emberi vörösvérsejten jelen vannak és azokat is, amelyek (ellenkezőleg) igen ritkán és csak egyes családokban vagy egyéneknél találhatók, a vörösvérsejt-alloantigének száma mintegy 250—300 közöttre tehető [8, 21, 63, 88, 97, 101, 130, 146, 154, 225].

A megismert vörösvérsejt-alloantigének számának növekedésével az ismereteknek nemcsak a mennyisége szaporodott. Pl. felismerték kapcsolatukat más öröklött jellemvonásokkal, összefüggésüket különböző betegségekkel, szerepüket a reprodukcióban, egyes immunhematológiai kórképekben és az általuk kiváltott alloimmunizációban. Tanulmányozásuk hozzájárult a genetika egyéb területeinek fejlődéséhez is. Több más emberi jellegzetességgel szemben megvan az az előnyük, hogy a szervezet olyan normális tulajdonságai, amelyek jelen vannak már a születéskor és megmaradnak változatlanul az egész élet folyamán, környezeti tényezők (főként betegségek) hatására is csak kivételesen ritkán változnak. Felismerésük objektív laboratóriumi módszerekkel történik, és így nem függ, vagy legalábbis kevésbé függ az egyéni megítélés bizonytalanságától. Vizsgálatuk elősegítette különböző, más jellegek öröklődési mechanizmusának és kapcsolódásuknak tanulmányozását, továbbá kromoszómaterképek készítését is.

Minden új területen általában a leggyakoribb és legnyilvánvalóbb jelenségek kerülnek először felfedezésre. Ez alól az immunogenetika sem kivétel.

A vörösvérsejt-alloantigéneket az antitestekkel adott immunológiai reakciók segítségével fedezték fel. Ha olyan idegen vagy azonos fajú egyénbe kerülnek, aki nem ugyanazzal a kémiai struktúrákkal rendelkezik, specifikus immunválaszt indíthatnak meg. Ezért tekintik őket antigénnek, és először ezt ismerték fel. Ez azonban csak egyetlen tulajdonságukat — antigéntermészetüket — bizonyítja, de nem ad semmi felvilágosítást pl. kémiai természetükre, molekulánagyságukra vagy fiziológiás működésükre, biológiai jelentőségükre vonatkozóan.

Az is hamarosan kiderült, hogy pl. az AB0-antigének nemcsak a vörösvérsejteken vannak jelen, hanem a szervezet többi sejtjein és a testnedvekben is. A populációgenetikai vizsgálatok segítségével arra is fény derült, hogy az egyes alloantigének gyakorisága jelentősen eltér a különböző népcsoportokban [137].

Öröklődésüket tekintve úgy látszott, hogy az őket kontrolláló gének dominánsak, továbbá, hogy az egy rendszerhez tartozó gének a többi vércsoportrendszer génjeitől függetlenül szegregálódnak.

A molekuláris genetika fejlődésével azonban elérkezett az az idő, amikor már nemcsak a szerológiai megfigyelésre és a formális genetika eredményeire lehetett támaszkodni, hanem fel lehetett vetni a vércsoportgén és a vércsoport-antigén közötti kapcsolat mibenlétének kérdését, felderíteni azt a genetikai mechanizmust, amely a gén jelenléte és az antigén megjelenése közötti folyamatot ellenőrzi. A géntől a géntermékig (antigén) az utat eléggé direktnek tekintették, és ebből következően a vörösvérsejt-alloantigéneket az őket kontrolláló gének közvetlen produktumainak vélték. Ez a feltételezés jogosnak látszott abban az időben, amikor az alloantigének kémiai szerkezetét még nem ismerték. A gén alapfunkciója a fehérjék kódolása — vagy önmaga reprodukciója, vagy a saját nukleinsavstruktúrája által meghatározott polipeptidlánc felépítése — és ez is a helyzet igen sok struktúrfehérje esetében. Ez esetben a gén terméke maga a fenotípus.



Amikor azonban a gének egy adott sejtben fejtik ki működésüket, és produktumaik legtöbbször sejt- vagy sejtmembrán-alkotórészzé — sejtfenotípusá — alakul, akkor ez a fenotípus gyakran egy komplex folyamat végső eredménye, számos genetikailag ellenőrzött lépés végterméke, ami már nem szükségszerűen fehérje.

A vércsoportgének és -antigének közötti kapcsolat felderítésében rendkívüli szerepet játszott az egyes vörösvérsejt-alloantigének kémiai szerkezetének fokozatos megismerése. Különösen két nagy kutatócsoport (KABAT és munkatársai, továbbá MORGAN, WATKINS és munkatársaik) erőfeszítéseinek köszönhető, hogy már az ötvenes években kiderült, hogy a szekrétaumban levő vércsoportanyagok nem fehérjetermészetűek, hanem glikoproteinek, amelyekben az antigénspecifitás a szénhidrát-részhez kötött. Pl. az A-, B-, H- és a Lewis-vércsoportanyagok mind glikoproteinek, amelyek általános kémiai és fizikai tulajdonságaikban nagyon hasonlóak, és mindegyikük L-fukózból, D-galaktózból, N-acetilglukózaminból, N-acetilgalaktózaminból és ugyanabból a 11 aminosavból áll. Azt, hogy mindezek az antigének hasonló kémiai alapszerkezettel rendelkeznek, bizonyítja az is, hogy gyenge savas vagy enzimes bontás után keresztreakciót adnak a XIV. típusú pneumococcusellenes lóantiszérummal, és a keresztreaktivitás nagy részben a glikoproteinmolekula nem redukáló terminális végekkel rendelkező oligoszacharidláncjaiban jelenlevő  $\beta$ -galaktóz-1-4 (vagy 1-3)  $\beta$ -N-acetilglukózamin egységnek tulajdonítható. Ezeknek az oligoszacharidláncoknak nincs vércsoport specifitásuk, de immunológiaiilag meghatározhatók.

Vizont az adott vércsoportgén által meghatározott alloantigén, azaz az a kémiai konfiguráció, amely az egyes szerológiai specifitásért felelős (antigén-determináns), bármilyen kis része legyen is az egész molekulának, rendkívül magas fokú immunológiai specifitásnak felel meg. Ez teszi lehetővé, hogy a végső vércsoporttermékek egymástól megkülönböztethetők [8, 20, 97, 102, 132, 133, 148, 206, 213].

A vörösvérsejt-alloantigének többségének különleges specifitása azon nyugszik, hogy génjeik egy-egy specifikus enzim termelődéséért felelősek, amely a megfelelő antigéndetermináns — jelen esetben egy-egy monoszacharid — hozzákapsolását biztosítja a prekursor anyagként tekinthető glikoproteinmolekula oligoszacharid láncához. Így mindenkiben a saját vércsoport-genotípusának megfelelő glikoziltranszferáz enzimek lesznek jelen.

A vércsoportantigének kémiai szerkezetének további vizsgálatából kiderült, hogy a testnedvekkel ellentétben, a vörösvérsejteken az antigénspecifitás nem vízben oldható glikoproteinekhez kötődik, hanem glikosztingolipoidokhoz. Az izolált glikosztingolipoidok kémiai analízise és immunológiai aktivitása azt mutatta, hogy az oligoszacharidláncok nem redukáló vége azonos a glikoproteinekben levőkkel. Sikerült az enzimeket is izolálni és ezzel bizonyítani a gének, enzimeik és az antigéndeterminánsok közötti kapcsolatot [20, 61, 103, 111, 132, 205, 208, 211, 217, 220].

Meg kell jegyezni, hogy a vörösvérsejt-alloantigének bioszintézisére vonatkozó ismereteink még nem teljesek, mert nem derítették fel minden eddig felfedezett vércsoport kémiai szerkezetét és a bioszintézis bonyolult folyamatának minden részletét. Ezért a mindig újabb biokémiai felfedezések tükrében a vércsoport-genetikai interpretációk állandó felülvizsgálata szükséges.

Úgy tűnik, hogy rendszerint azokat az antigéneket is, amelyek nem közvetlen géntermékek, egyetlen lokusz határozza meg. Ez azonban csak látszat, mert



teljesen valószínűtlen, hogy az egész komplex glikoproteinmolekula (vagy glikoszíngolipid) szintéziséért egyetlen gén legyen felelős. Több, genetikailag meghatározott bioszintetikus szakaszban — amelyek közül még számos rejtve maradt — mehet végbe a valószínűleg minden emberi lényben azonos komplett molekula szintézise. Maga a vércsoportgén a glikoproteinmolekula felépítésének végső szakaszában fejt ki hatását. Ez a génműködés csekély változást hoz létre, de ezzel mintegy az egyén genotípusa által meghatározott végső alloantigén-specifitást alakítja ki. Ennek bizonyítéka az is, hogy ugyanazon a glikoproteinmolekulán több mint egy vércsoport-specifitás jelenik meg.

Bár általában egyetlen fenotípust determináló gént és működését egy allélpár fogalmában tárgyalják, aligha akad olyan gén, amely a többi géntől teljesen függetlenül fejtené ki hatását. Legtöbbször a gének kölcsönhatásaival, együttműködésével vagy éppen ellenhatásaival találkozunk.

A genetikai háttér befolyásolhatja a gének kifejeződését az egyénben és penetranciáját a családban vagy a populációban. Ha két gén hatása érvényesül egy jelleg meghatározásában, akkor úgy fogható fel, hogy a végső fenotípust *génkölcsönhatások* hozták létre. Ez a meghatározás tágabb értelmű, és ide sorolhatók a rendkívül szoros géninterakciók éppúgy — amikor a gének ugyanazon működő egység részének tekinthetők —, mint a csak indirekt módon megnyilvánuló génkölcsönhatások.

A géninterakciók egyik formája, amikor a polimorfizmust meghatározó allélok egymás hatását gyengítik vagy erősítik.

Másik forma, amikor egy külön lokuszban elhelyezkedő gén megváltoztatja a struktúrgén fenotipikus hatását. Ezek a *modifikáló gének* lehetnek dominánsak vagy recesszívek. Néha független, saját működésük is van, de igen gyakran csak a fő gén működésének megváltozásából lehet jelenlétükre, illetve hatásukra következtetni. A domináns vagy recesszív *szuppresszor gének* teljesen vagy részlegesen elnyomják más gének kifejeződését, anélkül, hogy saját fenotipikus hatásuk lenne. A *regulátor gének* viszont egy struktúrgén kifejeződését vagy ki nem fejeződését szabályozzák a gén „bekapcsolásával”.

A génkölcsönhatások egy további bonyolult formája, amikor a gének bizonyos sorrendben lépnek működésbe a fenotípus kialakításakor úgy, hogy az egyes gének és aktív enzimeik egy másik gén termékeire hatnak, mint prekurzorra az antigén szintézisében. Gyakran a végső fenotípus kialakítása a gének közül csak egynek a működésén múlik, amelynek magának is van fenotipikus hatása. Ezt a lokuszt *episztatikusnak* nevezik a többivel szemben. Pl. ha egy reakciósorozat genetikai szabályozásának minden lépésében a megfelelő lokuszon legalább egy normális allélnak kell jelen lennie ahhoz, hogy a fenotipikus végtermék megjelenjen, akkor homozigótáság abnormális allélekre bármelyik lépésben, episztatikus hatást gyakorol az egész hátralevő szakaszra. Előfordul, hogy a sorozatos géninterakciók ugyanazt a makromolekulát érintik, befolyásolják [55, 96, 197].

A vörösvérsejt-alloantigének genetikája a mindennapos szerológiai munkában komplikáció mentesnek látszik. Valóban, ha egy vörösvérsejt agglutinálódik, pl. anti-A szérummal, akkor ez a reakció az A-antigén, illetve az A gén jelenlétére utal. Vannak azonban kivételek, amikor a szerológiai reakció valami kivételesre, eltérőre enged következtetni. Az ilyen kivételek — a várttól eltérő öröklődés — vizsgálatokkor derül fény a felszín alatt levő folyamatokra, és ezeken keresztül világítódik meg egy-egy fenotípus kialakulása, bioszintézise, az addig rejtve maradt géninterakciók is. Ezért érdemes megcsívélni minden vér-



csoport-immunológiával foglalkozónak is azt a mondást, hogy „őrizd kincséket a kivételeket”. Ezeknek a kivételeknek a segítségével hatolhatunk be abba a mechanizmusba, amellyel a gének az alloantigének szintézisét szabályozzák.

A gyakorlat számára elegendő lehet az alloantigének genetikájának felzáróbb ismerete. A mélyben meghúzódó folyamatok elsősorban a genetikust, az immungenetikust és a biokémikust érdeklik. Az ő munkájuk enged bepillantást a szervezet műhelyébe, és az a bonyolult egyszerűség, amit felfednek, a szakembert és a nem szakembert is csodálatra készíti.

A vörösvérsejt-alloantigének szintézise folyamán a gének közötti jobban vagy kevésbé megismert génkölsönhatásokat kívánjuk a következőkben részletesebben ismertetni.

### Az AB0 vörösvérsejt-alloantigénrendszer és társrendszerei (H, h, Se, se, és Lewis) génjeinek interakciói

Felfedezése után az AB0-rendszer egyszerű, egy lokuszban helyet foglaló 3 allél — az A, a B és a 0 gének — által meghatározott alloantigénrendszernek látszott. Az A-vércsoport (A-alloantigén) az A gén, a B-vércsoport (B-alloantigén) a B gén, az AB-vércsoport (A- és B-alloantigén) az A és a B gének együttes, a 0-vércsoport a 0 gén jelenlétét, illetve az A és a B gének hiányát tükrözi. Az A gén terméke az  $\alpha$ -N-acetilgalaktózamin-transzferáz enzim, a B gén  $\alpha$ -galaktóz-transzferáz enzim, a 0 gén amorf vagy csendes gén, amelynek nincs, vagy ha van, akkor inaktív terméke van.

Az AB0-rendszer sajátossága, hogy „természetes”-nek nevezett anti-A és/vagy anti-B ellenanyagok következetesen és rendszeresen megtalálhatók azon egyének savójában, akiknek vörösvérsejtjein nincsenek jelen az antitesteknek megfelelő alloantigének.

Az évtizedek során végzett vizsgálatokból kiderült, hogy az oly egyszerűnek látszó AB0-rendszer a valóságban az egyik legösszetettebb, legtöbb variánst magába foglaló, a szervezet csaknem minden sejtjén és az egyének 80%-ának szekrétaiban is megjelenő alloantigének rendszere. Az AB0-rendszer génjei alléljeikkel és több más rendszer génjeivel kölsönhatásban építik fel a nekik megfelelő antigéneket és ellenőrzik kifejeződésüket.

Az AB0-rendszer antigéndeterminánsai nem izoláltan helyezkednek el sem a vörösvérsejt-membrán lipoprotein-, sem a nyál glikoprotein-makromolekuláinak terminális részein, hanem az előbbieken a H- az utóbbiakon a H- és igen gyakran a Lewis-determinánsokkal együtt [166, 167].

### Az AB0 gének egymás közötti interakciói

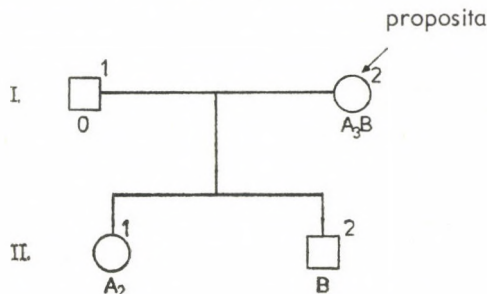
Az AB heterozigóta egyénekben gyakran előfordul az A- vagy a B-antigén depressziója, ritkábban pedig fokozott kifejeződése [89, 161, 165, 166].

Az allélikus depresszió klasszikus jelenség. Jellemzője jelen esetben, hogy az A és a B gén együttes jelenlétekor produktumaik enzimatis kompetícióban vannak a H-anyagért, és ennek következtében az egyik gén által kontrollált antigénhelyek száma csökken, kevesebb lesz, mint az A0 vagy a B0 heterozigótákban. Pl.: az A-helyek száma az A<sub>1</sub>B heterozigótákban 600 000, míg A<sub>1</sub>-vörösvérsejteken 800 000—1 000 000 között van, vagy az A<sub>2</sub>B-vörösvérsejteken



40 000—120 000 között található, szemben az  $A_2$ -vörösvérsejteken levő 150 000—400 000 A helyvel [45, 166]. Ezzel arányosan kevesebb lesz a specifikus ellenanyag által agglutinált vörösvérsejtek száma. Így gyengébb A- vagy B-fenotípus mutatkozik, mint ami az egyén valódi genotípusának megfelelne. Csak családvizsgálatokkal a családtagok genotípusaiból lehet következtetni a propozitusz fenotípusa mögött meghúzódó tényleges genotípusra.

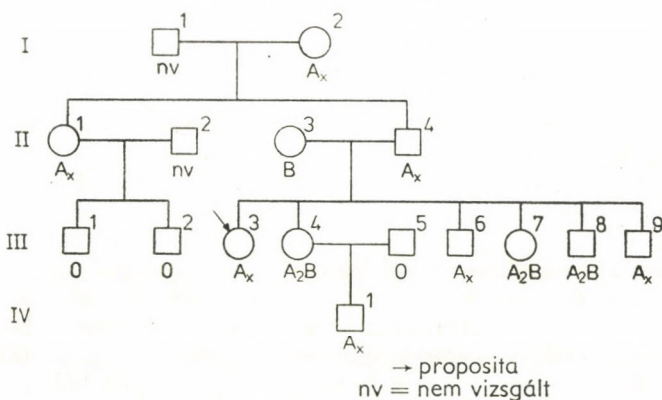
Az allélikus depresszió miatt jelennek meg pl. a következő AB-fenotípusok:  $A_3B$ , amelyben az  $A_3$  tulajdonképpen  $A_2$  [174] (I. ábra), vagy az  $A_x$  a B-vel társulva még tovább gyengül.  $A_2B$ -nek látszó  $A_1$ -et még eddig nem találtak normális H-anyag jelenlétékor, csak ha a H-anyag működésdeficiens volt. Viszont az  $A_1B$  fenotípusban a B jóval gyengébb, mint az  $A_2B$ -ben.



I. ábra. Allélikus depresszió AB heterozigotákban (SALMON és mtsai [174] után).

Az F. család. Miután a II.1 utódban az  $A_2$ -fenotípus jelent meg, az I.2 tulajdonképpen  $A_2B$  genotípusú, csak az allélikus depresszió miatt jelenik meg  $A_3B$ -fenotípusnak

Fig. 1. Allelic depression in AB heterozygotes (according to SALMON et al. [174]). Family F. Since  $A_2$  phenotype is manifested in II.1., I.2. is actually of genotypically  $A_2B$ ; but because of allelic depression seems to be  $A_3B$  phenotype



2. ábra. Fokozott allélikus kifejeződés AB heterozigotákban (DUCOS és mtsai [42] után).

A LAP család: a III.4, III.7 és III.8 családtagok  $A_2B$ -fenotípust mutatnak, noha a valóságban  $A_x$  gént kaptak a II.4 szülőtől és az  $A_x$ -nek is fejeződik ki, ha 0-val társul (III.3, III.6 és III.9). A IV. 1 családtagban is az  $A_x$  génnek megfelelő fenotípus jelenik meg a 0-val, bár a III.4 szülő  $A_2B$ -nek látszik

Fig. 2. Allelic enhancement in AB heterozygotes (according to DUCOS et al. [42]). Family LAP. III.4., III.7. and III.8. show  $A_2B$  phenotype, though in fact they got  $A_x$  gene from II.4. and this may be present as  $A_x$ , if it is associated with 0 (III.3., III.6. and III.9.). Also in IV.1. the phenotype corresponding to  $A_x$  appears with 0, though the parent III.4. seems to be  $A_2B$

Megjegyzendő, hogy az  $A_3B$ -fenotípus statisztikailag gyakoribb, mint genetikailag elvárható lenne [62].

Az *allélikus fokozott kifejeződés* sokkal ritkábban figyelhető meg az  $AB$  heterozigótákban. Egy családban az  $A_x$  gén 0-val társulva  $A_x$ -ként, míg  $B$ -vel társulva  $A_2$ -ként mutatkozott [173]. Egy másik családban három generáción keresztül volt követhető, hogy az  $A_2B$  fenotípusának látszó családtagok genotipikusan  $A_xB$ -nek feleltek meg [42] (2. ábra).

A jelenséget a specifikus oldható glikoproteinmolekulákkal is megfigyelték, tehát az nem a vörösvérsejt-membrán helyi állapota miatt jön létre [165]. Az  $A_2B$  családtagok szérumában az N-acetilgalaktózamin-transzferáz-aktivitás jelentékeny volt, míg az  $A_x$  egyéneknél az enzim aktivitása gyakorlatilag nem volt kimutatható.

### Az $ABO$ gének interakciói más génekkel

#### *Az $ABO$ gének interakciói regulátor, modifikáló, és szuppresszor génekkel*

*Az  $Yy$  gének.* Több olyan egyént találtak, akik gyenge  $A$  fenotípusának mutatkoztak. Az anti- $A$  szérum nem vagy csak igen gyengén agglutinálta a sejteket, míg anti- $H$ -val erős agglutináció jött létre, és ezért a sejtek 0 típusúnak látszottak. Ugyanakkor a sejt adszorbeálta az anti- $A$  ellenanyagokat, a nyálban  $A$ - és  $H$ -anyag, a szérumban csak anti- $B$  antitest volt jelen. A család vizsgálata alapján azonban kiderült, hogy az  $A_m$ -nek tűnő fenotípus mögött  $A_10$ -genotípusnak kell lennie. WEINER és mtsai [214], akik először írták le az  $A$ -antigén ezen modifikációját, egy  $Yy$  elnevezésű génpár létezését feltételezték, amely az  $A$ -antigén kifejeződéséért felelős a vörösvérsejteken, anélkül, hogy az  $A$ -anyag szekréciójára a nyálban hatással lenne. Tehát az  $A$ -antigén normális kifejeződéséhez a vörösvérsejteken az  $Y$  gén jelenléte szükséges homozigóta vagy heterozigóta állapotban. Az itt leírt,  $A_m$ -nek látszó fenotípusú egyének  $yy$  homozigóták lennének. A jelenség  $AB$  heterozigótákban is megnyilvánult. Az  $Yy$  gének látszólag nem gyakorolnak hatást a  $B$ - és a  $H$ -antigén megjelenésére. Az  $ABO$  lokusz és az  $Yy$  lokusz között nem találtak kapcsolódást.

*Regulátor gének* hatására jöhet létre a „genetikai blokk” a megfelelő transzferáz kifejeződésében a vörösvérsejt-antigén képződésének helyén, pl. a  $B_m$ -fenotípusban [126]. A  $B$ -antigén igen gyenge a vörösvérsejten, míg a nyálban normális mennyiségben is jelen lehet a  $H$ -anyaggal együtt. A vörösvérsejteken jelentékeny mennyiségű  $H$ -antigén található. Míg az  $\alpha$ -galaktóz-transzferáz és a  $H$ -enzim aktivitása is a normális  $B$ - vagy  $AB$ -egyénekéhez hasonló mértékű, addig a vörösvérsejt-membránon a  $B$ -enzim aktivitása igen alacsony. A  $B_m$ -fenotípus tehát a  $B$  gén kifejeződésének hiánya miatt jöhet létre, amit viszont valószínűleg egy még ismeretlen regulátor gén működése okozhat, vagy számításba vehető szomatikus mutáció is, másik mechanizmusként. Hogy melyik mechanizmus érvényesül a valóságban, további biokémiai vizsgálatoknak kell eldönteniük.

*Domináns vagy recesszív modifikáló gének* elnyomhatják az  $A$ - vagy a  $B$ -antigén kifejeződését. Hatásukra vezethetők vissza az egyes „gyenge”  $B$ -fenotípusok, amelyeket különböző családokban találtak [22, 74, 109, 126, 164].



Vizsgáltak egy családot, amelyben két féltestvér (az anya azonos volt) 0 fenotípusúnak látszott, míg valójában  $A_10$ , illetve  $B0$  genotípusúak voltak. A vörösvérsejtjeiken nem volt A-, ill. B-antigén kimutatható, viszont a szérumukban nem volt jelen anti-A-, illetve anti-B, míg nyálukban kevés A- és H-, ill. B- és H-anyagot találtak. Az A és a B normális gének működésére hatást gyakorló szuppresszor gének helyet foglalhatnak az  $ABO$  lokuszban, de lehetnek genetikailag függetlenek is.

### *Az $ABO$ és a Hh gének interakciói*

Régtől ismert volt, hogy egyes szarvasmarhaszérumok a nem specifikus heteroagglutininek adszorpciója után reakcióba lépnek emberi 0-sejtekkel. Kimutatták, hogy az  $A_1$  és az  $A_1B$  csoportú egyénekben esetenként található irreguláris agglutinin hasonló specificitást mutat. Először azt hitték, hogy az agglutinin anti-0 specificitású és a 0 gén produktumával reagál. Kiderült azonban, hogy heterozigóta és homozigóta  $A_2$ -sejtek is reagáltak az ún. anti-0 szérummal, sőt — bár gyengébben — más A vagy B csoportú sejtek is. Tehát az antiszérum által kimutatott anyag, amely kisebb-nagyobb mértékben minden emberi vörösvérsejten jelen volt, nem lehetett a 0 gén terméke. A szérumot később anti-H szérumnak, az általa kimutatott antigént H-antigénnek nevezték el [212].

A H-anyag egy nagyon gyakori H gén jelenlétekor termelődik egy eddig ismeretlen génnek által ellenőrzött prekursor anyagból. Már 1948-ban kiderült [134], hogy a sejteken levő H- és az A- és/vagy B-antigének mennyisége között negatív kapcsolat van. Ennek részletesebb tanulmányozása céljából a H-anyagot az *Ulex europaeus*-ból származó anti-H lektinnel kvantitatív hemagglutinációs módszerrel vizsgálták a különböző típusú vörösvérsejteken [188]. A H-anyag mennyisége az azonos típusú vörösvérsejteken is változó volt. Ugyancsak változott a mennyisége a különböző populációkban is, továbbá attól is függött, hogy milyen anti-H reagenst használtak [127]. Növényi lektineken és állati eredetű fehérjéken kívül egyes emberi szérumok is rendelkeztek anti-H aktivitással [168].

A vizsgálatok megállapították, hogy a H-antigének szerkezete felnőttekben és újszülöttekben is igen összetett. Az inhibíciós tanulmányok különbséget mutattak a sejteken  $H^c$  (H cell), illetve a szekréciókban levő  $H^s$  (H secretion) antigének között [38, 43, 61, 67, 78, 80, 102, 111, 112, 159, 168, 178, 192, 199, 202, 203].

A H gén független az  $ABO$  génektől, mégis rendkívül fontos szerepet játszik az  $ABO$  gének kifejeződésében, az A- és a B-antigének megjelenésében. 1952-ben BHENDE és mtsai [18] ismertettek egy különleges fenotípusú propozitust, akinek vörösvérsejtjeit sem az anti-A, sem az anti-B, sem az anti-AB, sem az anti-H szérumok nem agglutinálták, viszont szérumában az anti-A és az anti-B antitestek mellett anti-H ellenanyagok is jelen voltak. Miután a sejteket az anti-H antiszérum sem agglutinálta és a testnedvekben sem lehetett H — de A és B — aktivitást sem kimutatni, a szérumban pedig anti-H is volt található, a propozitusz nem lehetett 0 fenotípusú. A különleges fenotípust, amelyet az első propozitusz eredete után *Bombay-típusnak* neveztek el, számos hasonló ismertetése követte [1, 9, 14, 15, 16, 17, 39, 44, 58, 59, 76, 91, 93, 98, 115, 118, 131, 145, 147, 176, 223].



A Bombay-fenotípus létrejöttét BHENDE és mtsai [18] az AB0-lokusz egy „új” alléljával igyekeztek megmagyarázni. CEPPELLINI [29, 31] ezzel ellenében és messze előrelátóan egy más lokuszban elhelyezkedő inhibitor gén hatását tételezte fel, amely nem engedi az A- és/vagy B-antigén megjelenését. Az utóbbi hipotézist erősítették meg LEVINE és mtsai [118], amikor egy újabb Bombay-propozita és családja vizsgálatakor kiderült, hogy a propozita nem kifejeződött, de normális *B* génnel rendelkezik, amelyet anyjától örökölt, ő pedig tovább örökölte leányának. Ebből fenti szerzők is egy ritka szuppresszor gén — *x*-nek nevezték el — interakciójára következtettek, amely homozigóta állapotban elnyomja a *B* (vagy *A*) és az *Se* gén kifejeződését. Mind az *A* és *B*, mind az *Se* gén kifejeződik, ha átvivődik az *x* génre nézve heterozigóta utódra (*Xx*). A ritka *x* szuppresszor gén gyakori allélját *X*-nek jelölték. Így tehát a Bombay-fenotípus mögött az *xx* genotípust tételezték fel, amelynek következménye a H-anyag keletkezésének blokkja.

WATKINS és MORGAN a Bombay-fenotípus létrejöttét más genetikai háttérrel magyarázták [212]. Szerintük a H-anyag egy igen gyakori *H* gén által termelt enzim hatására képződik egy prekursor anyagból. Ez a H-anyag a további folyamatokban az *A* és a *B* gén által produkált enzimek szubsztrátja lesz, az A- és a B antigén prekursora. Ha az igen gyakori *H* gén helyét igen ritka amorf *h* allélje foglalja el mindkét kromoszómán, akkor a *hh* genotípusú egyénben nem termelődik H-enzim és nem épül fel H-anyag. H-anyag hiányában nem lesz az *A* és/vagy *B* gének enzimjei számára szubsztrát, tehát az A- és a B-antigének sem szintetizálódnak. Bombay-fenotípus csak *hh* homozigótákban alakul ki, mert heterozigóta *Hh* egyénben termelődik H-enzim, képződik H-anyag, és így felépül az A- és a B-antigének prekursora. A *Hh* heterozigóta párok gyermekei között lesznek a *hh* homozigóták, azaz a Bombay-fenotípusúak (I. típus). A Bombay-fenotípus jelölése  $0_h$  lett.

A gyakorlat számára tulajdonképpen mindegy — és nehéz is elkülöníteni —, hogy az  $0_h$ -fenotípus háttérben a *H* gén működésének a nem kapcsolt *X* lokusz *x* allélja általi szuppressziója, vagy magának a *H* génnek a hiánya és emiatt működésének kiesése van-e. Természetesen elméletileg két különböző szemléletről van szó. A *Hh* gének egyre inkább helyettesítik az *Xx* géneket, de egyes esetekben nem zárható ki a szuppressziós mechanizmus érvényesülése sem.

Amelyik Bombay-típus esetében családvizsgálattal kimutatható, hogy az *A* vagy a *B* gén van jelen, de A- vagy B-anyag nem termelődött, a fenotípus jelölésében ez kifejeződésre jut a következőképpen:  $0_h^A$ ,  $0_h^B$  vagy  $0_h^{AB}$ .

A Bombay-típusú egyének vizsgálatának újabb adatai bebizonyították, hogy az  $0_h$ -egyénekben valóban nem található meg az egyébként minden ember szérumában jelenlevő *H* gén termék, az  $\alpha$ -2-L-fukóz-transzferáz enzim [138, 156, 157, 179]. Ugyanakkor az  $0_h^A$ - és az  $0_h^B$ -egyénekben kimutatható az *A* gén enzimje, az  $\alpha$ -N-acetilgalaktózamin-transzferáz, illetve a *B* gén terméke, az  $\alpha$ -D-galaktóz-transzferáz. Így biokémiailag is bebizonyosodott a *H* gén hiánya és a működő *A* és/vagy *B* gén jelenléte.

A *H* gén fenotipikus termékének, a H-antigénnek a jelenléte a rutin, normális AB0-vércsoportmeghatározáskor rejtve marad. Csak a különleges, a normálistól eltérő fenotípusok megjelenése deríti ki rendkívüli fontosságát az A- és/vagy B-antigének képződésében. Az előbbiekből következik, hogy a *H* és az AB0-gének kölcsönhatása révén épülnek fel az A- és a B-antigének. Ha ez az interakció elmarad, az A- és a B-antigének nem szintetizálódnak. Tehát a *H* és



az *ABO* gének szekvenciális működéssorozatában a *H* lokusz episztatikus hatású az *A* és a *B* gének kifejeződésére.

Annak a bizonyítékai, hogy a *H* és az *ABO* gének kölcsönhatása szükséges az *A*- és a *B*-antigének felépítéséhez, más szavakkal, hogy a *H*-anyag az *A*- és a *B*-antigének prekuzora, a következők [25, 26, 95, 121, 162, 168, 178, 190, 203, 205, 215, 216]:

— ha az *A*- és a *B*-antigéneket enzimatis bontásnak vetik alá, akkor addig rejtett *H*-receptorok kerülnek felszínre;

— az *A* és a *B* gének glikoziltranszferáz enzimjei csak *H* aktivitású természetes vagy szintetikus anyagokra hatnak *in vitro*, és csak ezeket alakítják át *A*- vagy *B*-anyaggá. Olyan szubsztrátumokra, amelyeken nincs *H*-specifikus determináns, hatástalanok;

— ennek megfelelően a valódi  $O_h$ -vörösvérsejteket a *H*-anyag hiánya miatt az *A* vagy a *B* gének enzimjei nem képesek *in vitro* *A* vagy *B* típusú vörösvérsejteké konvertálni. Megjegyzendő, hogy újabb vizsgálatok szerint neuraminidázzal kezelt Bombay-sejtek guanozin-difoszfáttal (GDP-fukóz) és gyomornyálkahártyából nyert *H*-transzferázzal inkubálva *H*-pozitív sejtekké alakíthatók *in vitro*. Ezek a sejtek már tovább transzformálhatók uridin-difoszfát (UDP), *N*-acetyl-D-galaktózamin,  $Mn^{2+}$ -ionok és *A*-enzim jelenlétében *A*-pozitív vörösvérsejteké [180];

— általában reciprok viszony van az *A/B* és a *H*-antigének mennyisége között a vörösvérsejteken, amely szerológiai vizsgálatokkal is megfigyelhető;

— végül a Bombay-fenotípus alábbiakban összefoglalható jellemzői [154, 168, 204]:

— a *H*-antigén hiánya a vörösvérsejteken, amelyet az anti-*H* ellenanyagokkal való agglutináció elmaradása bizonyít;

— az *A* és/vagy *B*-antigének hiánya a vörösvérsejteken, amelyet az anti-*A* és/vagy anti-*B* ellenanyagokkal való agglutináció hiánya jelez;

— a *H*-anyag (és természetesen az *A* és/vagy *B*-anyag) hiánya a nyálban, ami a *hh* genotípusnak és nem az *Se* gén hiányának tulajdonítható;

— az anti-*A*, anti-*B* és anti-*H* antitestek jelenléte a szérumban;

— a *H*-enzim, az  $\alpha$ -2-*L*-fukóz-transzferáz hiánya a szérumban és a vörösvérsejteken;

— az *A* és/vagy *B*-enzim jelenléte a szérumban az egyén genotípusának megfelelően;

— csak a propozitusz testvérei között lehetnek Bombay-fenotípusúak;

— viszont a propozitusz szülei és gyermekei nem lehetnek Bombay-fenotípusúak.

A 3. ábra egy Bombay-fenotípusú propozita és családja vizsgálatának eredményeit mutatja be.

A Bombay-fenotípus és a további *H*-hiányos fenotípusok (l. később) felismerésével és létrejöttük magyarázatával alakult ki tulajdonképpen mai szemléletmódunk az *ABO*-rendszer genetikai hátterét illetően, amelynek lényege génekölcsönhatások sorozata. A szerológiai eredmények alapján feltételezett genetikai mechanizmus későbbi biokémiai megerősítése — ahogyan szinte költőien RACE és SANGER [154] kifejti: „... egy mélyebb szintről jövő visszhangja volt az első szerológiai üzenetnek”.

A 4. ábra a *Hh* és az *ABO* gének interakcióit mutatja be sematikusán, ami az *ABO*-antigének megjelenéséhez vagy meg nem jelenéséhez vezet a vörösvérsejteken.





Az is világhosszá vált, hogy ha a lokusz a *H* gén foglalja is el, más modifikáló vagy regulátor génekkel való interakciói szükségesek ahhoz, hogy akár a vörösvérsejteken, akár a szekrétrumokban normálisan kifejeződhessék és a továbbiakban az *A* és/vagy *B* géneknek prekurzoraként szolgálhasson.

Ilyen génkölcsonhatások a *Hh* és az *Sese*, illetve a *Hh* és a *Zz* gének között játszódnak le, és elmaradásuk következményeként keletkeznek az ABH nem szekretor és a *H*-hiányos fenotípusok [14, 15, 29, 90, 167, 168, 170].

### Az AB0, a Hh, az Sese és a Zz gének interakciói

#### A szekretor (*Sese*) rendszer

Már az 1920-as években észrevették, hogy az A- és B-vércsoportanyagok a nyálban is megjelennek. Néhány év múlva mutatták ki [116, 153], hogy bimorfikus tulajdonságról van szó, mert találtak olyan egyéneket is, akiknek nyála sem A-, sem B-antigént nem tartalmazott. SCHIFF és SAZAKI [182] állapította meg később, hogy az A- és a B-antigének szekréciónak képessége domináns MENDEL jellegként öröklődik és egy *Sese*-nek elnevezett (előzetesen *S*, *s*) génpár ellenőrzése alatt áll.

FRIEDENREICH és HARTMANN [56] és HARTMANN [81] számos vizsgálat alapján vízben oldható anyagoknak határozták meg a nyálban található ABH-vércsoportanyagokat, szemben a szövetekben jelenlevő ABH-vércsoportantigénekkkel, amelyek alkoholban oldódók voltak.

Az ABH-anyagok a nyálon kívül az egyéb normális, sőt kóros testnedvekben is kiválasztódnak. A szekretor rendszer nem is vércsoportrendszer, mert meghatározása kizárólag a nyálra van alapozva. Kimutatása azon alapszik, hogy a nyál gátolja az anti-H, az anti-A és az anti-B szérumok reakcióit megfelelő antigénjeikkel.

A szekretor státusz gyakoriságát a kaukázusiak között 80%-nak találták. A gyakoriság jelentősen változik a különböző populációkban.

A szekretor egyén lehet *SeSe* homozigóta vagy *Sese* heterozigóta, míg a nem szekretor *sese* homozigóta genotípussal rendelkezik.

Az *Sese* lokusz kapcsolódását a *Lutheran-lokusszal* már 1951-ben kimutatta MOHR [129]. Ez később további megerősítést nyert [70, 175], és ez volt az első példája az emberi autoszomális kapcsolódásnak, sőt crossing over-nek is. Ugyanakkor az *Sese* lokusz független a többi vércsoportrendszertől, így a *Hh*, az *AB0* és az *Lele* rendszertől is, noha funkcionálisan a legszorosabb kapcsolatban van ezekkel.

Az *Se* gén tulajdonképpen csak a szekrétrumokban befolyásolja a *H* gén működését és a glikoprotein természetű H-anyag képződését. Nincs hatással a vörösvérsejteken és más sejteken levő *H* génre, a glikolipoid természetű H-antigének felépítésére, mert a nem szekretorokban is normálisan megjelennek a vörösvérsejteken a glikolipoid H-, A- és B-antigének.

Ugyanezen nem szekretorokban viszont a vörösvérsejteken jelenlevő glikoproteineknek nincs A-, B- és H-specifitása, míg a szekretorok vörösvérsejtjein levő glikoproteinek és glikolipidok egyaránt az egyén genotípusának megfelelő H-, A- és B-antigéndeterminánsokat hordoznak.

Az *Se* gén jelenléte szükséges ahhoz, hogy bizonyos mukózus sejtekben, amelyekben a *H* gén  $\alpha$ -2-L-fukóz-transzferázt szintetizál, a *H* gén kifejeződ-



hessék. A H-enzimet ki is lehetett mutatni a szekretorok nyálmirigyekben. Ezért úgy fogható fel, mint egy regulátor gén, amelynek nincs saját terméke, nem ad új specificitást a prekursor anyaghoz, hanem azáltal fejeződik ki, hogy mintegy „bekapcsolja” a *H* gén működését [19, 20].

Csak a *H* és az *Se* gének ugyanazon sejten való, egyidejű jelenlétekor termelődik a H-enzim, amely a H-anyagot alakítja ki a prekurból, majd ha az *A* és/vagy *B* gének is jelen vannak, enzimeik felépítik a H-anyagból a megfelelő A- és/vagy B-anyagot.

A glikoprotein természetű H-anyag megjelenéséért a nyálban és a testnedvekben tehát a *H-Se* gének szintjén történő géninterakció a felelős. Ha egy *H* gén utáni blokkról lenne szó, a H-anyag normálisan szecernálna és jelen lenne az A- és B-anyagok kifejeződése nélkül is. Ezt támasztja alá az is, hogy *sese* nem szekretorok szubmaxilláris mirigyében és tejében nem volt jelen H-enzim, míg kimutatták a genotípusuknak megfelelő A- vagy B-enzimet, de mivel a H-anyag nem képződhetett, nem épült fel A- vagy B-anyag sem. Természetesen hiába van jelen az *Se* gén, ha a *H* gén nincs jelen (*hh* egyén), akkor ugyancsak nem szecernálódik H-anyag és következményesen A- és B-anyag sem.

A szekretor 0-egyén csak H-anyagot választ ki, a *H* és *A*, *B* génekkel rendelkezők nyálában megtalálhatók az A- és a B-anyagok és kisebb mennyiségben a H-anyag is. A legkevesebb H-anyag az AB vércsoportú egyén nyálában van.

Megjegyzendő, hogy a szekretorok és nem szekretorok nyála és testnedvei egyformán tartalmaznak kémiaiilag nehezen vagy nem megkülönböztethető glikoproteineket. Így tehát egy bizonyos mennyiségű prekursor anyag mindenkiben található, amire az oldható glikoprotein vércsoportanyagok felépülhetnek. A különbség az, hogy ezeknek a glikoproteineknek az immunológiai specificitása különbözik. A szekretorokban az egyén genotípusától függően ezek A-, B-, H-determinásokkal is rendelkeznek, míg a nem szekretorok glikoproteinjei nem mutatnak A-, B-, H-specificitást [167].

FIORI és mtsai [53, 54] újabb vizsgálatai szerint legalább három különböző molekulatömegű ABH-antigénaktivitást mutató glikoproteinfrakció separálható a szekretorok nyálából. A legnagyobb molekulatömegű frakció ( $2 \times 10^5$  —  $5 \times 10^6$ ) minden szekretor nyálában jelen volt, egyes esetekben egyedül, más esetekben vagy a második frakcióval (molekulatömeg 10 000—13 000), vagy a harmadik frakcióval (molekulatömeg 1500—2000), vagy mindkettővel együtt. A valódi nem szekretorok nyála egyik aktív frakciót sem tartalmazta, míg voltak olyan egyének, akiknek nyálában csak a második és/vagy a harmadik frakció volt jelen. KIMBERLING [104] mutatta ki, hogy a három frakció jelenlétéből, illetve hiányából B-fenotípus alakul ki. A frakciók jelenlétét vagy hiányát az általa *Sec*<sub>1</sub>, *Sec*<sub>2</sub> és *Sec*<sub>3</sub>-nak nevezett gének kontrollálják, amelyek különböző lokuszokban helyezkednek el. A *Sec*<sub>1</sub> gén határozná meg a tradicionális szekretor státuszt. Mindenesetre a kibővített szekretor rendszer további tanulmányozást igényel.

### A *Zz* génrendszer

Az *Sese* gének csak a mukózus sejtekben regulálják a *H* gén működését és a glikoprotein H-anyag megjelenését. A glikoszfingolipoid természetű H-anyag kifejeződését a vörösvérsejteken egy másik, *Zz* elnevezésű génpár regulálja,



a *Hh* gének működésének helyén az eritroblasztokban [47, 70, 105, 110, 154, 189]. Ha egy egyén homozigóta vagy heterozigóta formában mind a *Z*, mind a *H* génnel is rendelkezik, akkor a vörösvérsejteken felépítődik a *H*-anyag, továbbá az *A*- és a *B*-antigének is. A ritka *zz* homozigóta egyénben elmarad a *Z* és a *H* gének interakciója, és a *H* gén nem tudja kifejezteni működését, így a vörösvérsejten sem *H*-, sem *A* és/vagy *B*-antigén nem lesz. A *H* gén jelenlétére utal, hogy ugyanakkor szekretor egyének nyálában megjelenik a *H*-, az *A*- és/vagy *B*-anyag.

A *Sese* és a *Zz* regulátor gének nem kapcsolódnak és működésük egymástól független. Mindkét rendszer működésének közös nevezője a *H* gén kifejeződésének ellenőrzése a mukózus sejtekben, illetve az eritroblasztokban. A *H* gének az *Se* és a *Z* génekkel való interakcióinak hiánya alapvető fontosságú egyes *H*-hiányos fenotípusok létrejöttében.

### A *H*-hiányos fenotípusokat

- a) a vörösvérsejtek ABH-antigénjei,
- b) a nyálban levő ABH-anyagok,
- c) a szérumban és a vörösvérsejteken található géntermék enzimek,
- d) a szérumban levő anti-*H* viselkedése, és végül
- e) az öröklődés módja szerint

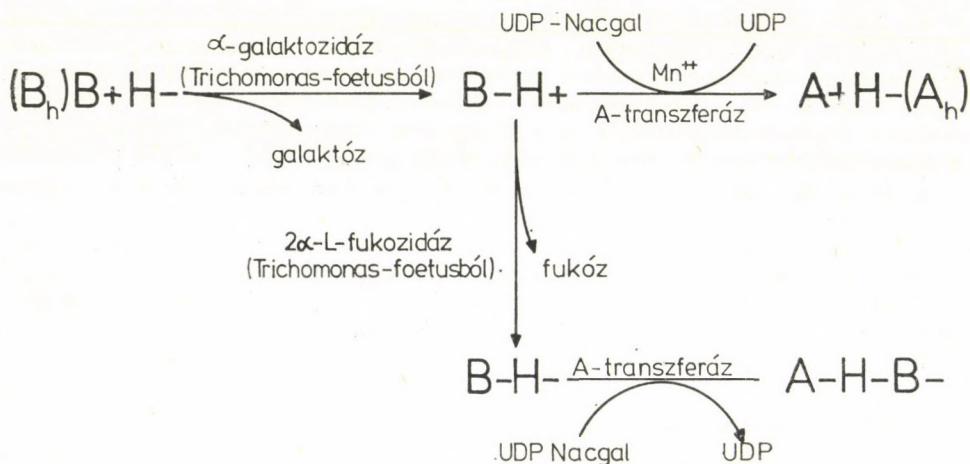
csoportosítják [170].

#### 1. *A<sub>h</sub>*- és *B<sub>h</sub>*-fenotípusok (II. típus)

Hasonlóak a valódi *0<sub>h</sub>* Bombay-fenotípushoz (I. típus) (l. előbb), de míg a vörösvérsejteken nem mutatható ki *H*-antigén, addig az *A*- és/vagy *B*-antigén jelenléte felfedezhető, esetleg gyengén pozitív direkt agglutinációval is. A nyálban nincs *H*-anyag, ami azt jelenti, hogy a nyálmirigyek sejtjeiben sincs jelen a *H* gén, és következményeként *A*- és/vagy *B*-anyag sincs. A szérumban az anti-*A* és az anti-*B* mellett anti-*H* ellenanyag is található. Sem a szérumban, sem a vörösvérsejteken nem fedezhető fel a *H*-enzim, míg az *A* és/vagy a *B* gének enzimjei kimutathatók [12, 13, 64, 119, 120, 140, 168, 170, 200].

Itt tehát ugyanúgy, mint az I. típusban, a *H* gén hiányáról van szó, amely meghatározza, hogy nincs *H*-anyag abban az esetben sem, ha a *Z* és/vagy *Se* gének jelen is vannak az egyén genotípusában. Az is kétségtelen azonban, hogy az *A*- és a *B*-antigének igen kis mennyiségben megtalálhatók az ilyen típusú sejteken, szemben a valódi Bombay-típussal.

Újabb vizsgálatok azt mutatják, hogy ha a *B<sub>h</sub>*-vörösvérsejteken a *B*-antigént a *Trichomonas foetus*-ból nyert  $\alpha$ -galaktozidázzal hasítják, kis számban rejtett *H*-determinánsok jelennek meg. A *B<sub>h</sub>*, azaz *B*+*H*-vörösvérsejt tehát átalakul *B*-*H*+ vörösvérsejtté. Ha a *B*-*H*+ sejtet *in vitro* inkubáljuk  $\alpha$ -*N*-acetylgalaktózamin-transzferázzal (*A*-enzim), uridin-difoszfát-*N*-acetylgalaktózamin (UDP-*N*-acgal) és  $Mn^{++}$ -ionok jelenlétében, akkor a sejt *A*+ sejtté konvertálódik, amelyen ismét nem mutatható ki a *H*-antigén, azaz *A*+*H*-sejt lesz. Ha azonban az enzimátikus bontást folytatják és a *B*-*H*+ sejtet  $2\alpha$ -*L*-fukozidázzal kezelik, a *H*-determinánsok eltűnnek, de az így *B*-*H*-tulajdonságúvá vált sejt már nem alakítható át a fenti rendszerben *A*+ sejtté [140] (5. ábra).



UDP = uridin-difoszfát

UDP<sub>Nacgal</sub> = uridin-difoszfát-N-acetilgalaktózamin

5. ábra.  $B_h$ -vörösvérsejtek enzimátikus átalakítása  $A_h$ -vörösvérsejteké (MULET és mtsai, [140] után)

Fig. 5. The enzymatic transformation of erythrocytes  $B_h$  into erythrocytes  $A_h$  (according to MULET et al. [140])

Ez a kísérleti eredmény is alátámasztja, hogy a H-anyag valóban prekurzora a B- vagy az A-anyagok szintézisének. Továbbá, hogy ezeken az  $A_h$ - és  $B_h$ -sejteken, amelyek látszólag mind a H-enzimtől, mind a H-determinánsoktól meg vannak fosztva és mégis van rajtuk igen kevés számú A- vagy B-determináns, nem szükséges az eredetitől eltérő utat keresni az utóbbiak szintéziséhez. Ezek a kísérletek is megerősítették ugyanis, hogy H-anyag képződik a sejten, csak igen kis mennyiségben, ami — mind felhasználódván az A- és/vagy B-antigének felépüléséhez — nem mutatható ki. Valószínűleg a  $Hh$  lokuszt — egyelőre feltételezett — különböző aktivitású  $h$  gének foglalhatják el, egészen az amorf  $h$  génig. Az igen csökkent aktivitású  $h$  gének ( $h_1$ ,  $h_2$  stb.) megmagyarázhatják az  $A_h$ -,  $B_h$ -fenotípust is.

Jellemző még az  $A_h$ - és a  $B_h$ -fenotípusra, hogy míg a propozitusz testvérei között lehetnek olyanok, akik azonos fenotípussal rendelkeznek, addig a szüleik, illetve gyermekeik között az nem fordulhat elő.

## 2. A $H_z$ , a $H_z^A$ és a $H_z^B$ fenotípus (III. típus)

A  $H_z$  fenotípusú vörösvérsejteken, hasonlóan az előzőekhez, nem mutatható ki a H-antigén agglutinációval, míg a nyálban normális mennyiségben van jelen a H-anyag, ha az egyén szekretor. Ez annyit jelent, hogy az egyén normális  $H$  génnel rendelkezik, így az adott fenotípus magyarázatát más géneknek a  $H$  génre kifejtett hatásában kell keresni [47, 91, 94, 105, 110, 140, 154, 170, 189]. A H-antigén teljes vagy csaknem teljes hiányával együtt az A-



és/vagy B-antigén sincs jelen. A sejtek a megfelelő antiszérumokkal nem agglutinálódnak, de egyes esetekben fixációs-elúciós módszerrel igen kis mennyiségben kimutathatók az A- és a B-antigének, amikor is a fenotípust  $H_z^A$  vagy  $H_z^B$ -nek jelölik. A H-enzim sem a szérumban, sem a vörösvérsejteken nem mutatható ki, míg a genotípusnak megfelelő A- és/vagy B-enzimek igen. A szérumban anti-A, anti-B és anti-HI ellenanyagok vannak jelen. A  $H_z$ -fenotípus recesszív öröklődése arra mutat, hogy a már említett Zz génrendszer igen ritka z génje van jelen ezekben az egyéneknél homozigóta állapotban. Így hiányzik a Z és a H gén kölcsönhatása, amely szükséges a H gén kifejeződéséhez és a glikolipoid természetű H-antigének szintéziséhez a vörösvérsejteken. A H és az Se gén interakciója a mukózus sejtekben viszont kiváltja a H gén kifejeződését, és normális mennyiségű H-anyagot, ill. A- és B-anyagot hoz létre. Ha azonban sem a Z, sem az Se gén nincs jelen az egyénben (zz, sese), az ezzel a háttérrel rendelkező fenotípus nem különböztethető meg a Bombay-fenotípustól (I. táblázat).

Az I. táblázat a H-anyag megjelenését mutatja a Hh géneknek az Se, se és Zz regulátor génekkel való interakciói alapján.

I. táblázat  
A H-anyag megjelenése a Hh, Sese és Zz gének interakciói következtében

Table 1. The production of the H substance on the basis of the Hh, Sese and Zz gene interactions

H, h gének	Se, se	Z, z	H anyag		Fenotípusok
	regulátor gének		vörösvérsejteken	nyálban	
H	Se	Z	+	+	szekretor ABH
H	sese	Z	+	-	nem szekretor ABH
h,h	Se v. sese	Z v. z,z	-	-	Bombay (I. típus)
H	Se	z,z	-	+	$H_z$ (II. típus)

### 3. A $H_m$ domináns fenotípus (IV. típus)

A  $H_m$ -fenotípus dominánsan öröklődik. Az egyén rendelkezik H génnel, ami a nyálban az Se gén hatására ki is fejeződik. A vörösvérsejteken nem vagy igen kis mennyiségben található H-antigén, és ennek megfelelően az A- és/vagy B-antigének is hiányoznak. Az előző III. típustól eltérően a szérumban és a vörösvérsejteken is kimutatható a H-enzim normális mennyisége, ami természetesen ellentétben van a vörösvérsejtek igen gyenge H-reaktivitásával. Így a fenotípus létrejötte nem a Hh rendszerrel magával lehet összefüggésben (sem a h gén variánsaival, sem a H gén és a reguláló gének közötti interakciókkal), hanem elképzelhető — egyelőre más magyarázat hiányában —, hogy a H-anyag szintézisének egy előző fázisában kell keresni a blokk okát [37, 90, 92, 94, 151, 170, 172].

A H-hiányos fenotípusok jellemzőit a II. táblázat foglalja össze.

II. táblázat  
A H-hiányos fenotípusok jellemzői

Table 2. The characteristics of the H-deficient phenotypes

Vörösvérsejt-fenotípusok	Antigének				Ellenanyagok szérumban	Glikoziltranszferázok				Öröklődés módja
	vörösvérsejten		nyálban			szérumban		vörösvérsejten		
	H	A/B	H	A/B		H	A/B	H	A/B	
I. típus: Bombay $0_h^0(0_h^A, 0_h^B)$	—	—	—	—	anti-H anti-A anti-B	—	+	—	+	recesszív (hh)
II. típus $A_h, B_h$	—	(+)	—	—	anti-H anti-A v. anti-B	—	+	—	+	recesszív (h-variánsok?)
III. típus $H_z(H_z^A, H_z^B)$	(+)	(+)	+	+	gyenge anti-H v. Hl anti-A v. anti-B	—	+	—	+	recesszív (zz)
IV. típus $H_m(H_m^A, H_m^B)$	(+)	(+)	+	+	gyenge anti-H v. Hl anti-A v. anti-B	+	+	+	+	domináns (előző szakasz?)

Az AB0, a Hh, az Sese és az Lele gének interakciói

A Lewis-rendszer igen érdekes és bonyolult története 1946-ban kezdődött MOURANT felfedezésével [136], aki — egy addig ismeretlen vörösvérsejt-antigénnel reagálni látszó — új antitestet talált. Ez az antitest az anti- $Le^a$ , az antigén az  $Le^a$ , a gén az  $Le^a$ , a rendszer a Lewis elnevezést kapta. Hamarosan [2] felfedeztek egy, az előzővel csaknem mindig ellentétes reakciókat adó antiszérumot, és feltételezték, hogy ez az  $Le^a$  gén alléljének a termékével reagál. Ezért az antigént  $Le^b$ -nek nevezték el.

Eredetileg tehát úgy látszott, hogy az eddig megismertekhez hasonló, jellegzetes két antigénnel rendelkező, két allél által ellenőrzött vércsoportrendszerrel van szó. Ennek megfelelően három fenotípus mutatkozott a következő gyakorisággal:  $Le(a+b-)$  20%,  $Le(a-b+)$  70% és  $Le(a-b-)$  10%.

Populáció- és családvizsgálatokban a vörösvérsejt-fenotípusok olyan meglepő tényeket fedtek fel, amelyeket a feltételezett, klasszikus genetikai háttérrel nem lehetett magyarázni [3, 28, 29, 32]. Pl. egyes  $Le(a+)$  egyének szülei  $Le(a-)$ -ok voltak, illetve megfordítva  $Le(a+)$  szülőktől  $Le(a-)$  gyermekek származtak. Az  $Le^b$ -antigén öröklődése sem volt világos, hiszen  $Le(b+) \times Le(b+)$  párok gyermekei között  $Le(b+)$  és  $Le(b-)$  gyermekek is voltak, de hasonló volt a helyzet az  $Le(b-) \times Le(b-)$  párok utódai között is.

GRUBB [72, 73] mutatta ki, hogy egyes egyének a Lewis-anyagot nyálukba kiválasztják, ugyanúgy, mint az ABH-anyagokat. A nyálfenotípusok inkább egyeztek a genetikai hipotézissel, mert ha a nyálban jelen volt az  $Le^a$ -antigén,



akkor az legalább az egyik szülő testnedveiben is megtalálható volt. Viszont, ha egyik szülő testnedveiben sem volt kimutatható a Lewis-anyag, akkor az az utódok testnedveiből is hiányzott.

Az anti-Le<sup>a</sup> antitestet nemcsak az Le(a+b-) vörösvérsejt-típusú egyének nyála gátolta, hanem az Le(a-b+) egyéneké is, ami azt jelentette, hogy a vizsgáltak nyálának 90%-a tulajdonképpen Le(a+) volt, míg a vörösvérsejteknek csak 20%-a. Viszont, ha a vörösvérsejt Le(a+) volt, akkor a nyálban mindig volt Le<sup>a</sup>-anyag.

A nyál- és a vörösvérsejt-fenotípusok tehát gyakran eltérőek voltak olyan értelemben, hogy a nyálban jelenlevő Lewis-anyag nincs mindig kötelezően jelen a vörösvérsejteken. Ez a szituáció ellentéte az ABH-szekretor kapcsolatnak. Ez is arra mutat, hogy a Lewis-anyagok elsődlegesen a testnedvekben megjelenő antigének és bizonyos genotípusokban csak másodlagosan jelennek meg a vörösvérsejteken [72, 73, 169].

Ugyancsak azt is megfigyelték, hogy azok az egyének, akiknek mind testnedvei, mind vörösvérsejtjei Le(a+b-)-ok, azok mindig ABH non-szekretorok, míg az Le(a-b+)-ok mindig ABH-szekretorok. Ebből először arra következtek, hogy a Lewis és a szekretor lokusz egy és ugyanaz lehet. CEPPELLINI [28, 30] bizonyította be, hogy a fenti két lokusz különböző, és valószínűleg két kromoszómán is foglalnak helyet. Ha a Lewis- és a szekretor gének nem is azonosak, a közöttük levő interakciók határozzák meg, hogy a Lewis-antigének közül melyek lesznek jelen a szekréumokban és a vörösvérsejteken. CEPPELLINI és SINISCALCO [32] azt a következtetést vonták le, hogy a Lewis-rendszer kiinduló pontja, meghatározója a nyálban megjelenő Le<sup>a</sup>-anyag. Az Le<sup>a</sup>-anyag jelenléte a nyálban egyszerű MENDEL-jelleként öröklődik, és az Le<sup>a</sup>-pozitivitás domináns a Lewis-negativitással szemben. Le<sup>a</sup>-anyag akkor építődik fel a prekursorból, ha az Le gén és speciális enzime jelen van. Ha az Le gén nincs jelen és a lokuszt az amorfnak feltételezett le-nek elnevezett allélja foglalja el homozigóta állapotban, akkor az enzim nem termelődve, Le<sup>a</sup>-anyag nem szintetizálódik a nyálban, és a vörösvérsejten sem jelenik meg. Le<sup>a</sup> anyag LeLe homozigótában és Lele heterozigótában is termelődik (III. táblázat).

### III. táblázat

Az AB0, Hh, Sese és Lele gének interakciói által létrehozott fenotípusok

Table 3. Phenotypes produced by the AB0, Hh, Sese and Lele interactions gene

Genotípusok			Antigének					
			vörösvérsejteken			nyálban		
Hh	Sese	Lele	ABH	Le <sup>a</sup>	Le <sup>b</sup>	ABH	Le <sup>a</sup>	Le <sup>b</sup>
HH v. Hh	SeSe v. Sese	LeLe v. Lele	+	-	+	+	+	+
HH v. Hh	sese	LeLe v. Lele	+	+	-	-	+	-
HH v. Hh	SeSe v. Sese	lele	+	-	-	+	-	-
HH v. Hh	sese	lele	+	-	-	-	-	-
hh	SeSe v. Sese	LeLe v. Lele	-	+	-	-	+	-
hh	sese	lele	-	-	-	-	-	-



Az *Lele* és az *Sese* gének interakcióin alapul az  $Le^a$ -antigén megjelenése a nyálban és a vörösvérsejteken. Ugyanakkor az  $Le^b$ -antigén genetikai hátterét az *Le* és az *le* gének nem magyarázzák. Az egyetlen eset, amikor  $Le^b$ -antigén található a szekrétumokban és a vörösvérsejteken is, ha  $Le^a$ -anyag van a nyálban és az egyén ABH-szekretor. Tehát mind az *Le*, mind az *Se* gén egyidejű jelenléte nélkülözhetetlen. Ebből arra következtettek először, hogy az  $Le^b$ -antigén az *Le* és az *Se* gének interakciós terméke lenne, amelynek szintéziséhez nincs szükség a kezdetben feltételezett  $Le^b$  génre. Későbbiekben kiderült — a kémiai vizsgálatokból is —, hogy az  $Le^b$ -antigén valóban interakciós termék oly módon, hogy az *Le* és a *H* gének enzimeit egy-egy fukózmolekula hozzáadásával az I. típusú  $\beta$ -galaktóz-1—3- $\beta$ -N-acetilglukózamin prekursor szubsztrátból kialakítanak egy újabb terméket. Az így felépült —  $Le^b$ -nek nevezett — külön specificitású molekula szintéziséhez tehát nem szükséges egy külön  $Le^b$  gén és annak enzime [29]. Az *Le* és a *H* gének interakciójából ugyanahhoz a molekulához hozzáadott  $Le^a$ - és H-reaktivitás együttes megjelenése egy új specificitást, az  $Le^b$ -antigént hozza létre, amely csak a számára specifikus anti- $Le^b$  ellenanyaggal mutatható ki. Az  $Le^b$ -antigén szintetizálásában az *Le* és az *Se* gének interakciójának feltételezése jogos olyan értelemben, hogy a *H* gén nem fejtheti ki működését a mukózus sejtekben az *Se* gén egyidejű jelenléte nélkül. Tehát *sese* egyénekben hiába van jelen az *Le* és a *H* gén, csak  $Le^a$  képződik, de  $Le^b$  nem. Ugyanakkor, ha az *Le* gén nincs jelen (*lele*), akkor a *H* és az *Se* génekkel rendelkező egyénekben sem  $Le^a$ , sem  $Le^b$  nem szintetizálódik [125].

Miután a Lewis-rendszer szekréciós rendszer, a szervezet genotípusának megfelelő antigének először a szekrétumokban jelennek meg. Az *Le*, *Se* egyének nyálában a H-, az  $Le^a$ - és az  $Le^b$ -antigének is jelen vannak, míg az *le*, *sese* egyénekben csak nagy mennyiségű  $Le^a$ -anyag található. Az *Se*, *lele* egyének nyála nem rendelkezik Lewis-anyagokkal, csak ABH-anyagokkal, míg az *sese*—*lele* nyálban egyáltalán nincs sem ABH-, sem  $Le^a$ -anyag (bár néha igen kis mennyiségű  $Le^b$  kimutatható, és ezért az *le* gént nem mindenki tartja tökéletesen amorfnak [6]). Ugyanezek a Lewis-anyagok vannak jelen természetesen a plazmában és más testnedvekben is.

Szemben a vörösvérsejt-alloantigének nagy többségével, amelyek a vörösvérsejt prekurzor sejtjeiben szintetizálódnak és a vörösvérsejt-membrán integráns részei, a Lewis-antigének másodlagosan, a plazmából adszorbeálódva kerülnek a vörösvérsejt felszínére [35, 36].

Hasonló jelenséget írtak le már előzőleg a tehének J- és a birkák R-rendszerével kapcsolatban [160, 194]. Ugyanis J-negatív tehének vagy R-negatív birkák sejtjei J-, illetve R-pozitívvá váltak J-pozitív tehének, illetve R-pozitív birkák szérumban való inkubálás után. Ebből az látszott, hogy a J- vagy az R-antigének a szérumban vannak jelen és onnan kerülnek a vörösvérsejt felszínére.

SNEATH és SNEATH [187] kísérletei valóban behozták, hogy a Lewis-vörösvérsejtfenotípust a plazmában levő antigének adszorbeációja a vörösvérsejtekre alakítja ki. Az  $Le(a+b-)$  donortól származó sejtek az  $Le(a-b+)$  recipiensben a transzfúzió után *in vivo*  $Le(a+b+)$ -vá váltak, mert a recipiens plazmájában levő  $Le^b$ -anyagot adszorbeálták a felszínükre. Ugyanez az átalakulás *in vitro* is végbement az  $Le(a-b+)$  vagy  $Le(a+b-)$  sejtek adszorbeálták az  $Le^a$ - vagy az  $Le^b$ -antigént, ha megfelelő plazmában inkubálták azokat; Lewis-anyagot nem tartalmazó plazmában pedig az  $Le(a+b+)$  sejtek



Le(a—b—) sejtekké alakultak. Az Le<sup>a</sup>- és az Le<sup>b</sup>-antigént a vörösvérsejtekről többszöri mosással is el lehet távolítani.

A vörösvérsejteken levő Lewis-antigének plazmából származását emberi iker kiméréken [141, 218] és csontvelő-átültetetteken végzett további vizsgálatok is megerősítették.

A plazmában levő Lewis-anyagok a limfocitákra és a trombocitákra, sőt még egyes plazmában tenyésztett parazitákra is képesek adszorbeálódni [27, 41, 68, 87, 99].

A Lewis-anyagok oligoszacharideterminánsok, amelyek a nyálban vízben oldható glikoproteinekhez, a plazmában szfingolipoidokhoz társulnak és gátolják a megfelelő Lewis-antitestek reakcióit. A Lewis-specifitással rendelkező szfingolipoidok a plazma lipoproteinfrakciójához kötődnek [77, 79, 82, 186]. Ha a plazmából a glikoszfingolipoid tartalmú lipoproteineket eltávolítják, a plazma nem rendelkezik tovább az Le<sup>a</sup>- vagy az Le<sup>b</sup>-aktivitással [124].

A csoportspecifikus plazmaszfingolipoproteinek származásának helye, ahonnan a plazmába, majd a vörösvérsejtek felszínére kerülnek, még ismeretlen. A vörösvérsejt-membránon glikozilceramid természetű anyagokként találhatóak, ugyanúgy, mint az ABH-, P- és P<sub>1</sub>-glikolipoidok. Míg azonban az ABH-glikoszfingolipoidok a vörösvérsejteken kizárólag 2. típusú prekursor láncokon épülnek fel, addig a Lewis-specifitások az 1. típusú láncokon találhatóak. Ez is egy biokémiai bizonyítéka a Lewis-antigének külső eredetének [123].

A Lewis-specifitációs plazmaszfingolipoidok termelése csak a születés után kezdődik meg, míg az ugyanazon specifitációs glikoproteineké már a magzati fejlődés korai szakaszában megindul [196]. Az egyén végleges vörösvérsejt-fenotípusa a 2. életév után alakul ki.

Az Le gén produktuma, a 4- $\alpha$ -L-fukoziltranszferáz enzim megtalálható az emberi tejben [71] és részecskékhez kötött formában a gyomormukózában és a nyálmirigyekben [33], valamint a vese egyes sejtípusaiban [142, 143]. Ugyanakkor a szérumban nem mutatható ki [179], és ugyancsak nincs jelen a vörösvérsejt-membránban sem, ami direkt bizonyítéka annak, hogy nem a hemopoetikus szövetekben szintetizálódnak a Lewis-aktív struktúrák.

Az Le gén 4  $\alpha$ -L-fukóz-transzferáz enzimje ugyanazokból a cukormolekulákból felépült szénhidrátláncokra fejti ki hatását, mint az A, a B és a H gének enzimjei. A szénhidrátlánc nem redukáló, terminális  $\beta$ -galaktóz- $\beta$  N-acetilglukozamin diszacharid vége 1—3 vagy 1—4 kötésben kapcsolódhat össze. Míg az A, a B és a H gének enzimjei mind az 1. típusú (1—3 kötés), mind a 2. típusú (1—4-es kötés) láncra is létrehozhatják a megfelelő specifikus antigénstruktúrákat, addig az Le gén enzimje az Le<sup>a</sup>-antigén szintézisekor csak az 1. típusú lánc N-acetilglukozaminjához tudja hozzáadni a fukózmolekulát, mert a 2. típusú láncban ez a kötés már foglalt [122, 123, 135, 158]. Az enzim szubsztrát-specifitása elég széles, mert a fukózmolekulát minden 1. típusú láncra már előzetesen felépült H-, A- és B struktúrához képes hozzáadni.

A H és az Le gének a diszacharid-alapszerkezetre fejtik ki hatásukat, átalakítva azt H- és Le<sup>a</sup>-anyaggá, így interakcióban létrehozva az Le<sup>b</sup>-antigént. Az *lele* egyénekben nem lesz specifikus fukoziltranszferáz, nem épül fel az Le<sup>a</sup>-antigén és hiába van jelen H gén, nem épül fel az Le<sup>b</sup>-antigén sem [125, 163, 209]. *In vitro* tanulmányok [184] azt mutatták, hogy az Le<sup>b</sup>-interakciós termék felépülésének leggyakoribb útja az, hogy először a H-transzferáz ad hozzá egy fukózmolekulát az 1. típusú láncra a galaktózmaradékhoz, kialakítva a H-antigént, azután hat az Le transzferáz, és a második fukózmolekula hozzá-



kötésével az N-acetilglukózamin maradékhoz felépül az aktív  $Le^b$ -szerkezet. Természetesen az 1. típusú H-anyag a genetikai környezettől függően alakulhat át A- vagy B-, illetve  $Le^b$ -antigénné. Úgy látszik azonban, hogy az *Le* gén hatására kialakult  $Le^a$ - vagy  $Le^b$ -szerkezet a láncok felépítésének a befejezéseként tekinthető, mert ezek már nem konvertálódnak tovább a H, az A vagy a B gének glikoziltranszferázai által [83, 84, 106, 107, 155, 207, 210]. Ez a jellegzetesség, amelyet a jelenlevő 1. és 2. típusú láncok aránya is befolyásol, részben megmagyarázza a szekrétumokban az ABH-glikoproteinek mikroheterogenitását, azt, hogy ugyanazon a makromolekulán a komplett A- és B-láncok mellett mintegy inkomplett szénhidrátláncok is jelen vannak, csak  $Le^a$ - vagy  $Le^b$ -antigéndeterminánsokkal, de A- és B-determinánsok nélkül.

STEALEY [191] vércsoport-specifikus glikoproteinek enzimatisz leépítésével végzett vizsgálatainak eredményei azt mutatták, hogy az A- és a B-specifikus csoportok mögött  $Le^b$ -szerkezetek is lehetnek. Ugyanis, ha az N-acetilgalaktóزامint, illetve galaktózt eltávolítják a láncról, az  $Le^b$ -aktivitás fokozódik. Továbbá, hogy azokban az egyénekben, akik  $A_1$ , H, Se és *Le* génekkel rendelkeznek, olyan szfingolipoidok képződnek, amelyekeken egy újabb interakciós termék épül fel és található meg a plazmában, valamint a vörösvérsejteken. Ez az új antigén magába foglalja az  $A_1$ - és az  $Le^b$ -determinánsokat [35, 86, 183, 198]. Az  $A_1Le^b$ -antigén az  $A_1$ , H, Se és *Le* gének interakciójából jön létre, és a fentieknek megfelelően a H-aktív szerkezetre először az A-transzferáznak kell hozzáadnia az N-acetilgalaktóزامint, majd az *Le* fukoziltranszferáz tovább alakítja a molekulát  $Le^b$ -anyaggá. Ez ismét új specificitás, amely csak a számára specifikus anti- $A_1Le^b$  ellenanyaggal mutatható ki.

A géninterakciós specificitások kémiai szerkezetének és felépülésük mechanizmusának felderítésével az előzetesen felfedezett Lewis-antitestek szerológiai reakcióinak különlegességei a különböző Lewis-determinánsokkal, biokémiai állapot nyertek, továbbá érthetővé váltak a vörösvérsejt-fenotípusok is. Közismert volt pl., hogy az anti- $Le^b$  ellenanyagok nagy része az  $A_1$  (és sokszor a B) vörösvérsejteken sokkal ritkábban mutatta ki az  $Le^b$ -antigént, mint a 0-vörösvérsejteken, pedig a genotípus alapján az  $Le^b$ -jelenléte elvárható volt. Az anti- $Le^b$  antitestek azon csoportját, amely nem mutatja ki az  $Le^b$ -antigént az  $A_1$ - és egyes B-sejteken, de reagál a 0- és  $A_2$ -vörösvérsejtekkel, anti- $Le^{bH}$ -nak, míg azt a csoportját, ami felismeri az  $A_1$  sejteken is az  $Le^b$  antigént, anti- $Le^{bL}$ -nek nevezték el. Ez utóbbi az anti- $Le^b$  antitestek azon csoportja, amelyik az  $A_1Le^b$  determinánsal is specifikusan reagál [210].

A Lewis rendszer  $Le^a$  és  $Le^b$  antigénjeinek felfedezése után leírtak és vizsgáltak egy újabb antitestet, amely kapcsolatban látszott lenni a Lewis-rendszerrel [5, 100, 195]. Az új antitest ugyanis minden  $Le(a+b-)$  és  $Le(a-b+)$  — nyálába  $Le^a$ -anyagot kiválasztó — egyén vörösvérsejtjeivel reagált. Talán, ha elsőnek ezt az anti  $Le^x$ -nek elnevezett antitestet fedezik fel, akkor az általa kimutatott antigén kapta volna az  $Le^a$  elnevezést. Az anti- $Le^x$  ellenanyagot is használva, négy Lewis-vörösvérsejt-fenotípus különböztethető meg: az  $Le(a+b-x+)$ ,  $Le(a-b+x+)$ ,  $Le(a-b-x+)$  és  $Le(a-b-x-)$ . Az első két fenotípus csak felnőttek, a harmadik csak csecsemők, a negyedik felnőttek és csecsemők vörösvérsejtjein található meg. Ez utóbbi negyedik fenotípus mintegy 10%-os gyakorisággal jelenik meg, ami megfelel az *lele* genotípus arányának [7].

A kimerítési kísérletek alapján az  $Le^x$  determináns önállóan látszik, amely *Le* génnel rendelkező felnőttekben, tekintet nélkül a szekretor státuszra,



jelen van a vörösvérsejteken. A Lewis-pozitív egyének nyála erősen gátolja az anti-Le<sup>x</sup> ellenanyagot. Mindez arra enged következtetni, hogy azok a feltételezések, amelyek szerint az anti-Le<sup>x</sup> egyszerű keveréke az anti-Le<sup>a</sup> és az anti-Le<sup>b</sup> antitesteknek, vagy az anti-Le<sup>a</sup>-val keresztreagáló antitest lenne, nem bizonyultak be [4, 7, 185].

Az Le<sup>a</sup> Le<sup>b</sup> és Le<sup>x</sup> antigént is számításba véve, a vörösvérsejtek ABO-csoportjától függően a Lewis-fenotípusokat a *IV. táblázat* mutatja be. A *IV. táblázat* a Lewis-rendszer kiterjesztését jelentő, később felfedezett Le<sup>c</sup>- és Le<sup>d</sup>-antigéneket is szerepelteti.

*IV. táblázat*

*A különböző ABO fenotípusú vörösvérsejtek Lewis-fenotípusai*

Table 4. Lewis phenotypes according to the various ABO phenotypes of the adult red cells

Genotípus a nyálba kiválasztott antigéneknek megfelelően	Vörösvérsejtek ABO-fenotípusai	Vörösvérsejtek reakciói					Vörösvérsejtek Lewis-fenotípusai
		anti-Le <sup>a</sup>	anti-Le <sup>b</sup> L	anti-Le <sup>b</sup> H	anti-Le <sup>x</sup>	anti A <sub>1</sub> -Le <sup>b</sup>	
		antiszérumokkal					
A H Se Le	A <sub>1</sub>	—	+	—	+	+	Le(a—b+x+c—d—)
A H Se Le	A <sub>2</sub>	—	+	+	+	—	Le(a—b+x+c—d—)
A H Se lele	A <sub>1</sub> v. A <sub>2</sub>	—	—	—	—	—	Le(a—b—x—c—d+)
A H sese lele	A <sub>1</sub> v. A <sub>2</sub>	—	—	—	—	—	Le(a—b—x—c+d—)
A H sese Le	A <sub>1</sub> v. A <sub>2</sub>	+	—	—	+	—	Le(a+b—x+c—d—)
H Se Le	0	—	+	+	+	—	Le(a—b+x+c—d—)
H Se lele	0	—	—	—	—	—	Le(a—b—x—c—d+)
H sese lele	0	—	—	—	—	—	Le(a—b—x—c+d—)
H sese Le	0	+	—	—	+	—	Le(a+b—x+c—d—)
B H Se Le	B	—	+	—	+	—	Le(a—b+x+c—d—)
B H Se lele	B	—	—	—	—	—	Le(a—b—x—c—d+)
B H sese lele	B	—	—	—	—	—	Le(a—b—x—c+d—)
B H sese Le	B	+	—	—	+	—	Le(a+b—x+c—d—)

A Lewis-rendszer kiterjesztése, az Le<sup>c</sup>- és az Le<sup>d</sup>-antigének

Nyulat vagy kecskét emberi nyállal immunizálva, olyan újabb antitesteket is sikerült termelni, amelyek csak bizonyos Lewis-fenotípusokkal reagáltak, és valószínűleg új antigéneket látszottak felismerni. POTAPOV [149, 150] kecskét immunizálva olyan antiszérumot nyert, amely az Le(a—b—) szekretorok vörösvérsejtjeit erősebben agglutinálta, mint a nem szekretorokét. Az antigént Le<sup>d</sup>-nek nevezte el. GUNSON és LATHAM [75] egy emberi szérumban olyan antitestet talált, amely az Le(a—b—) nem szekretor egyének sejtjeivel reagált. Az antigén az Le<sup>c</sup> jelölést kapta, mert megjelenése reciprok viszonyt mutatott az Le<sup>d</sup>-vel.

Későbbiekben kiderült, hogy a két antigént nem az Le gén működése ellenőrzi, tehát tulajdonképpen nem tartoznak a Lewis-rendszerbe, elnevezésük is hibás, ami ehhez a rendszerhez köti őket az egyedül a kémiai hasonlóság.

A  $Le^c$ -antigén egy igen gyakori gén által meghatározott  $\alpha$  3-L-fukóztanszferáz enzim hatására épülhet fel a 2. típusú láncból oly módon, hogy az enzim hozzáad az N-acetilglukozaminhoz 1—3 kötésben egy fukózmolekulát. Így az  $Le^c$ -antigén tükörképe lenne az  $Le^a$ -antigénnek.

Az  $Le^d$ -antigén viszont — az  $Le^b$  analógiájaként — a  $H$  gén és az  $Le^c$ -t meghatározó gén interakciós terméke. Tehát az  $Le^d$ -determináns szintéziséhez nincs szükség külön génre és enzimekre sem [75].

HIRSCH és mtsai [86] különböző AB0 és szekretor típusú egyéneket vizsgálva a nem szekretorokat  $Le(a+)$  és  $Le(c+)$ -nak, a szekretorokat  $Le(b+)$  és  $Le(d+)$ -nak találták.  $Le^c$ - és  $Le^d$ -antigén nem fordult elő  $Le^a$  és  $Le^b$  jelenlétekor. Ehhez hasonlóan 98 felnőtt, különböző 0 és  $A_2$  típusú vörösvérsejtből álló panel anti- $Le^a$ , anti- $Le^b$ , anti- $Le^c$  és anti- $Le^{dH}$  antitesttel való vizsgálata azt mutatta, hogy minden sejtet csak egyetlen antiszérum agglutinált. Ha az  $Le^a$  vagy  $Le^b$  jelen voltak, nem lehetett  $Le^c$ -t vagy  $Le^d$ -t is találni [69].

A következő volt megállapítható:

- *Lesese* egyének egyedül  $Le^a$
- *LeSeH* egyének egyedül  $Le^b$
- *leleSe* egyének egyedül  $Le^d$  (sem  $Le^a$ , sem  $Le^b$ )
- *lelesese* egyének egyedül  $Le^c$  (sem  $Le^a$ , sem  $Le^b$ )

specificitású szfingolipoidokkal rendelkeznek a plazmában és a vörösvérsejteken.

A legutóbbi időben az  $Le^c$  és az  $Le^d$  determinánsok bioszintézisét megkérdőjelezték, mert ha azok a 2. típusú láncon épülnek fel, miért nem találhatók együtt az  $Le^a$ - vagy  $Le^b$ -antigénekkal, amelyek az 1. típusú láncon helyezkednek el, és az 1. és 2. típusú lánccal rendelkezésre áll [69].

Felvetődik, hogy az  $Le^c$  az *le* gén produktuma lenne, amely a 2. típusú láncon épül fel. Heterozigóta *Lele* egyedben sem található az  $Le^a$  vagy az  $Le^b$  mellett  $Le^c$ - vagy  $Le^d$ -antigén. Ezek az antigének elsősorban az *Le* génnel nem rendelkező egyének vörösvérsejtjein jelennek meg, így az *Le* gén hiányának és nem az *le* gén jelenlétének felelnek meg.

A  $H$  (*Se*) génre specifikus transzferáz jelenléte — az ABH-szekretor státusz alapján meghatározva — jobb információt szolgáltat a Lewis-típusra vonatkozóan. Minden ABH nem szekretor vagy  $Le^a$ - vagy  $Le^c$ -antigénnel rendelkezik, míg az ABH-szekretorok vörösvérsejtjein  $Le^b$ - vagy  $Le^d$ -antigén található. GRAHAM és mtsai [69] szerint mind a négy vörösvérsejt-fenotípus létrejöhet az *Le* és a  $H$  (*Se*) gének fukoziltranszferázainak egyidejű vagy külön-külön való jelenlétekor vagy hiányakor.

Amikor mind a két  $Le$ - és  $H$ - (*Se*-) transzferáz jelen van, akkor  $Le^b$ -antigén szintetizálódik:  $Le$ -transzferáz egyedül  $Le^a$ -antigént hoz létre. A  $H$ - (*Se*-) transzferáz egyedül az  $Le^d$ -antigént képezi. Ha mindkettő hiányzik,  $Le^c$ -antigén jelenik meg.

Az  $Le^c$ -szerkezet lehet: *a*) maga az 1. típusú lánccal, amelyet sem az *Le*, sem a  $H$  (*Se*) gének transzferázai nem változtattak meg, vagy *b*) egy olyan antigéndetermináns ezen a láncon, amely a két fukózmolekulát távollétében kerül felszínre, vagy *c*) az 1. típusú lánccal, amelyet egy nem azonosított más gén transzferáz terméke megváltoztathat. Ezt a lehetőséget alátámaszthatja annak közlése, hogy az anti- $Le^c$  szérumot a 3-fukozillaktóz gátolta [75]. Az  $Le^d$  viszont az 1. típusú láncon felépült  $H$ -antigén lehet.

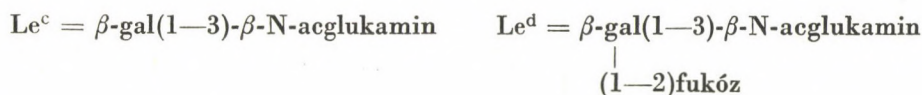
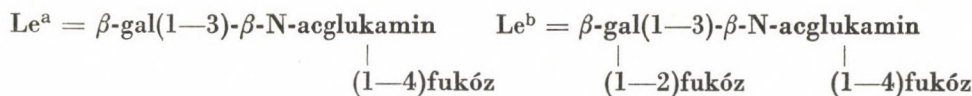
Így az  $Le^c$ - és az  $Le^d$ -antigének a biokémiai prekursorai lehetnek az  $Le^a$ - és az  $Le^b$ -antigéneknek. Az  $Le^c$ -re, illetve az  $Le^d$ -re mint prekursorokra



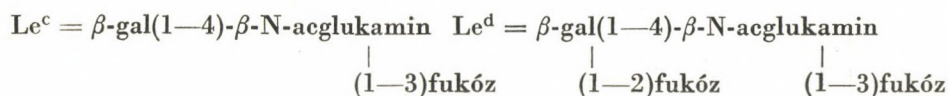
hatva az *Le* gén — a genotípusban szereplő többi génnel kölcsönhatásban — szintetizálná az  $Le^a$ - és az  $Le^b$ -antigéneket.

PROHASKA és mtsai [52] legújabb kísérleteikben kimutattak Lewis-prekursor glikolipoidokat a plazmában és a vörösvérsejteken  $Le(a-b-)$  egyénekben. Ezeknek az enzimatis fukolizációja  $Le^a$ -, majd  $Le^b$ -specificitást eredményez.

Azt, hogy a ma Lewis elnevezésű négy specificitás mind az 1. típusú láncokon épül-e fel, GRAHAM és mtsai [69] elképzelései szerint:



vagy GUNSON és LATHAM [75] és POTAPOV [149] szerint az  $Le^a$  és az  $Le^b$  az 1. típusú láncokon, de az  $Le^c$  és az  $Le^d$  a 2. típusú láncokon szintetizálódnak:



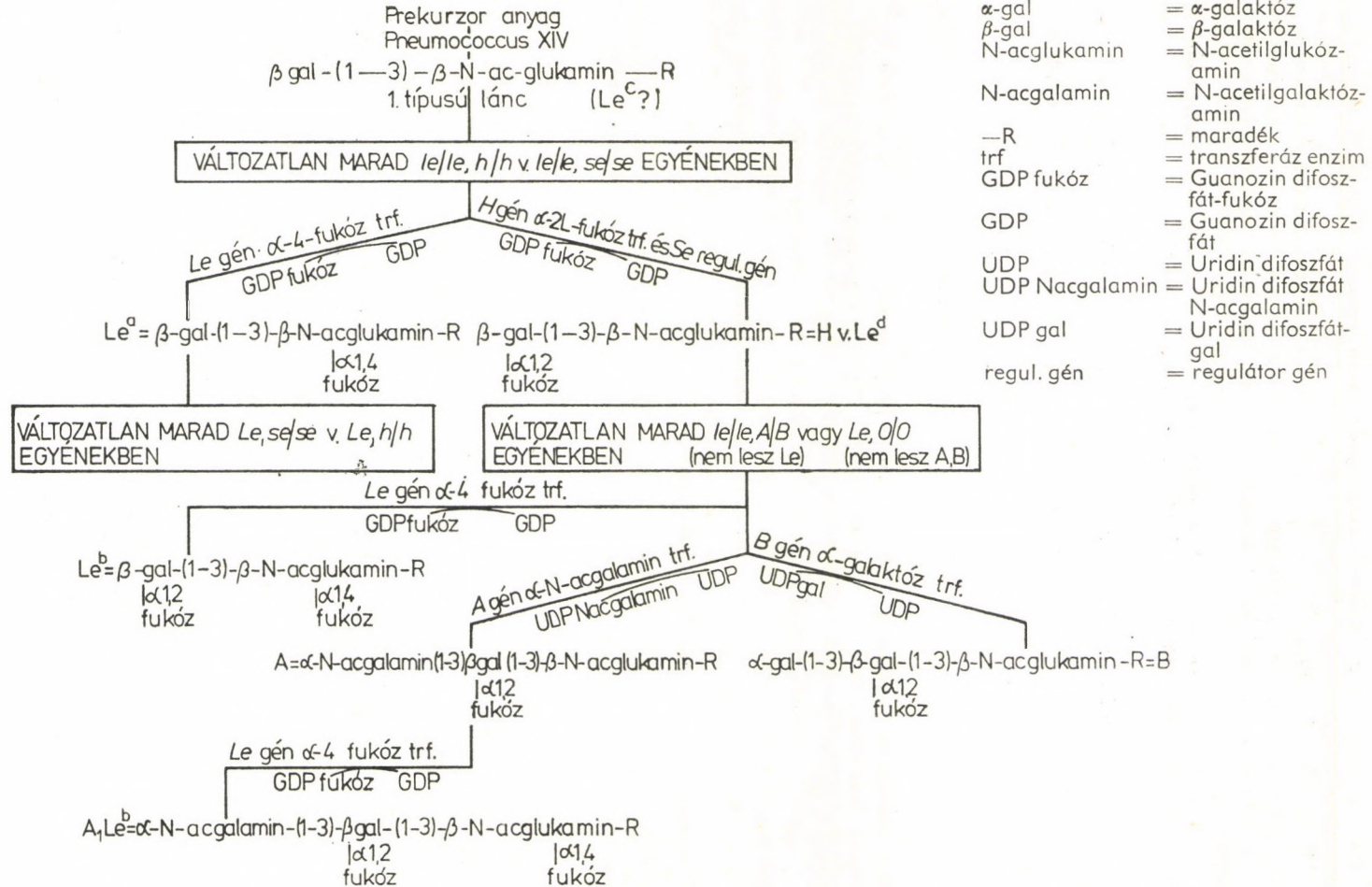
még további vizsgálatokkal kell eldönteni\*.

#### *Az ABO, a H és Lewis antigének bioszintézise*

Az *ABO*, a *Hh* és az *Lele* immungenetikai rendszerek génjei glikoziltranszferáz enzimeket determinálnak. Ezek az enzimek adják hozzá az *A*-, *B*-, *H*- és Lewis-antigénspecificitásokat jelentő immundomináns monoszacharid-egységeket az 1. vagy 2. típusú glikoprotein prekursor molekulák oligoszacharid láncainak  $\beta$ -galaktóz (1-3) vagy (1-4)  $\beta$ -N-acetilglukózamin terminális részéhez [10, 24, 27, 108, 117, 128, 144, 177, 181, 219, 221, 222]. Ezen genetikai rendszerek struktúrgénjeinek kifejeződését több más, olyan gén működése befolyásolja, amelyeknek nincs saját glikoziltranszferáz terméke, hanem inhibitor vagy szuppresszor vagy reguláló szerepet töltenek be. Utóbbiakhoz tartoznak az *Sese*, a *Zz* és az *Yy* gének, amelyek a *H* gén kifejeződését szabályozzák a szekrétumokban, illetve a vörösvérsejteken.

A felsorolt, egymástól független génrendszerek interakciói határozzák meg a különböző szövetekben és szekrétumokban található ABH- és Lewis-antigének megjelenését. A gének ugyanarra a glikoprotein (illetve glikoszfingolipoid) prekursor anyagra hatnak oly módon, hogy a végtermék kialakításban egymás után fejtve ki működésüket, építik fel azt a közbülső anyagot, amely a következő lépésben ható géntermék prekursora lesz. Az antigén felépülése

\* Rövidítések magyarázatát l. a 6. ábrában.



6. ábra. Az A-, B-, H- és Lewis-antigének bioszintézise a szekréciókban az Lele, Hh, Sese és AB0 gének interakciói alapján  
Fig. 6. The biosynthesis of antigenes A, B, H and Lewis in secretion fluids following gene Lele, Hh, Sese and AB0 interactions



megáll, megakad, ha a szekvenciában valamelyik lokuszt az inaktív, csendes, amorf allélek foglalják el homozigóta állapotban [23, 65, 66, 207, 208, 209, 210].

Az A-, B-, H- és Lewis-alloantigének bioszintézise a szekrétumokban a következőképpen ábrázolható sematikusan (6. ábra).

A pneumococcus XIV-nek megfelelő specificitású prekursor anyag  $\beta$ -galaktóz (1—3) vagy (1—4)- $\beta$ -N-acetilglukózamin-R 1. típusú lánc, amely a bioszintézis kiinduló pontja, változatlan marad olyan egyénekben, akik nem rendelkeznek *Le*, *H*, *Se* génnel, azaz *lele*, *hh*, *sese* genotípusúak. Ilyenkor nem szintetizálódnak sem a Lewis-antigének, sem a H-antigén, és következményesen az A- és a B-antigének sem jelennek meg. Egyesek szerint az 1. típusú prekursor lánc felelne meg az  $Le^c$ -specificitásnak.

Ha az egyén rendelkezik *Le* génnel és *H* génnel, de *Se* génnel nem, akkor a prekursorból felépül az  $Le^a$ -antigén, de a H-antigén hiányozni fog a szekrétumokból. Hasonló lesz a helyzet, ha *Le* és *Se* gén is van a genotípusban, de nincs *H* gén (*hh* egyén). Az *Le* gén hiányakor nem lesz  $Le^a$ -antigén, de a *H* és *Se* gének interakciója nyomán felépül a H anyag. Az 1. típusú H anyag lenne az  $Le^d$ -antigén. A H-antigénre fejtik ki hatásukat az *A* és a *B* gének, illetve az változatlan marad, ha a genotípus *00*. Az *Le* és a *H* (*Se*) gén interakciójából szintetizálódik az  $Le^b$ -, ill. az A-antigénből az *Le* génnel együttműködve az  $A_1Le^b$ -antigén.

Ugyanezen géninterakciók alapján szintetizálódnak a prekursor  $\beta$ -galaktóz-(1—4)- $\beta$ -N-acetilglukózamin-R 2. típusú láncából a H- és az A- és B-antigének, míg az  $Le^a$ - és az  $Le^b$ -determinánsok a 2. típusú láncokon nem épülhetnek fel. Egyesek szerint viszont az  $Le^c$ - és az  $Le^d$ -determinánsok nem az 1. típusú, hanem a 2. típusú láncokon találhatóak. Az  $Le^c$  az  $Le^c$  gén  $\alpha$ -3 L-fukoziltranszferáz enzime hatására jönne létre, amely a 2. típusú lánc N-acetilglukózaminjához adna hozzá egy fukózmolekulát 1—3 kötésben, az  $Le^d$  pedig az  $Le^c$  és a 2. típusú H-antigén interakciós terméke.

Az 1. és 2. típusú láncok mindig együtt találhatóak meg a prekursor glikoproteinekben a szekrétumokban.

A vörösersejteken a H-, A- és B-antigének olyan megaglikolipoidokon épülnek fel, melyeknek KOSCIELAK [111] a poliglikozilceramid (PGC) elnevezést adta. A közös prekursor 2. típusú láncán terminális részéhez a  $\beta$ -galaktóz-(1—4)- $\beta$ -N-acetilglukózaminhoz (laktózceraamid, amelyhez továbbkapcsolódik-(1—3)- $\beta$ -galaktóz-(1—4)- $\beta$ -glukózceraamid = paraglobozid vagy neolaktotetraozilceramid) adják hozzá a *H*, *A* és *B* gének glikoziltranszferáz enzimeit a megfelelő cukormolekulákat. A prekursor molekula változatlan marad a *hh* vagy *zz* genotípusú egyénekben és az A-antigén sem épül fel *yy* homozigótákban.

A plazmában levő  $Le^a$ - és  $Le^b$ -antigének 1. típusú lakto-N-tetraozilceramid szerkezetűek.

Az igen komplex, elágazó poliglikozilceramid-molekuláknak a H-, A- és B-aktivitáson kívül I- és i-aktivitása is kimutatható [48, 60, 171, 201, 224]. Az I-antigén bonyolult szerkezete aszerint változik, hogy milyen forrásból származik, és az anti-I autoantitestek egész sorozatával képes reakcióba lépni. Az I- és az i-specificitású emberi monoklonális autoantitestekkel végzett vizsgálatok — amelyek lehetővé teszik különböző oligoszacharid-domének specificitásának megismerését — azt mutatták, hogy az I- és az i-antigének ismétlődő galaktóz-(1—4)- $\beta$ -N-acetilglukózamin szekvenciával felépült hosszú szénhidrát-láncokon épülnek fel. Az i-determináns egyenes láncon, az I-determináns elága-



zó szerkezeten levő specifikus doménnek felel meg [34, 49]. Egyesek szerint az I-antigén az i-ből fejlődik, de a megfelelő glikoziltranszferázok, amelyek az I- és az i-antigének bioszintézisében részt vesznek, még nem ismeretesek.

Miután az I-antigén a vörösvérsejt-membránon levő számos oligoszacharidlánc alapstruktúrájának látszik, felmerült, hogy a H-, A-, B-, Le<sup>a</sup>- és Le<sup>b</sup>-antigének bioszintézisének prekuzora, de a meggyőző bizonyítékok hiányoznak [40]. Valószínűnek látszik, hogy a H-, az AB0-, a Lewis- és a P-rendszer antigéndeterminánsainak későbbi hozzáadása ugyanazokhoz a láncokhoz olyan többszörös konfigurációkat teremt, amelyek szerológiaiilag csak specifikus antitestekkel mutathatók ki. Ilyenek az IH-, IA-, IB-, iH-, IP<sub>1</sub>-, I<sup>T</sup>P<sub>1</sub>-, iP<sub>1</sub>- és ILe<sup>bH</sup>-determinánsok. Az, hogy ezek a komplex determinánsok megfelelő géninterakciók eredményei-e vagy pedig fenotipikus szinten létrejövő különböző térbeli alakzatok miatt mutatkoznak közös specifitásoknak a szerológiai reakciókban, még nincs eldöntve.

Úgy látszik azonban, hogy az I- és az i-antigének is beilleszkednek hamarosan az AB0-rendszer és társrendszereik körébe, abba a körbe, amely az utóbbi évtizedekben felhalmozott szerológiai, immunológiai, genetikai és biokémiai ismeretek miatt az immungenetika egy részének valóságos kincstárává vált.

### Összefoglalás

A vércsoportok felfedezése óta az immungenetikának a vörösvérsejtalloantigénekkal foglalkozó ágában igen nagy fejlődés követhető nyomon. Nemesak a felfedezett alloantigének száma növekedett, hanem egyes alloantigének kémiai természete és genetikailag ellenőrzött bioszintézise is ismertté vált.

Így az AB0-rendszerbe és társrendszereibe (Hh, Sese, Lewis) tartozó antigénekről bebizonyosodott, hogy azok az őket meghatározó géneknek nem közvetlen termékei, hanem az antigéndeterminánsok különböző monoszacharidok, amelyek egy közös glikoprotein vagy glikolipoid prekuzor molekulán helyezkednek el. Az egyes cukormolekulát az adott gén specifikus terméke, egy glikoziltranszferáz enzim adja hozzá a glikoproteinmolekula oligoszacharidláncában elhelyezkedő  $\beta$ -galaktóz-(1—3 vagy 1—4)- $\beta$ -N-acetilglukózamin terminális részhez.

Egy-egy alloantigén felépülésében különböző géninterakciók játszanak szerepet. A H, A és B struktúrgéneknek egymással, és több modifikáló, gátló vagy szuppresszor génnel való interakciója alapján jelennek meg a modifikált, gyenge, hiányos H-, A- és B-fenotípusok a vörösvérsejteken. Ha a H-lokuszon a H gén helyét amorf h allélje foglalja el, nem képződik H-antigén, és ennek következtében, miután a H-antigén az A- és/vagy B-antigének prekuzora, hiába szerepel a genotípusban az A és/vagy B gén, nem szintetizálódik az A- és/vagy B-antigén sem. Így a H és A és/vagy B gének interakciója biztosítja az A- és a B-antigének bioszintézisét.

Ha a H gén jelen is van, további génkölsöhatásokra van szükség, hogy kifejeződhessen. Az Se génnek kell jelen lennie ahhoz, hogy a szekrétaumokban, és a Z génnek ahhoz, hogy a vörösvérsejteken felépüljön a H-antigén. Ezek a regulátor gének mintegy „bekapcsolják” a H gént.

Az Le<sup>b</sup>- és az Le<sup>d</sup>-antigének is géninterakciós termékek: az előbbi az Le<sup>a</sup> és a H (Se) géneké az 1. típusú láncon, a második esetleg az Le<sup>c</sup> és a H (Se) géneké a 2. típusú láncon.



A H-, A-, B- és Lewis-antigének szekvenciális bioszintézisében részt vevő glikoziltranszferáz géntermékeket a vörösvérsejtekben, a mukózus sejtekben és a vérplazmában már sikerült izolálni és tisztítani. Hiányuk vagy jelenlétük, egyéb adatokkal, a várttól eltérő szerológiai reakciókkal felfedezett különleges fenotípusok létrejötteként biokémiai hátterét tárta fel. Ezen keresztül sikerült bepillantani a vércsoportgén jelenlététől a vércsoportantigén megjelenéséig vezető bonyolult folyamatokba.

#### IRODALOM

1. ALOYSIA, SR. M., GELB, A. G., FUDENBERG, H., HAMPER, J., TIPPETT, P. and RACE, R. R. (1961) The expected "Bombay" groups  $0_{H}^{A_1}$  and  $0_{H}^{A_2}$ . *Transfusion*, **1**, 212—217.
2. ANDRESEN, P. H. (1948) The blood group system L. A new blood group  $L_2$ . A case of epistasy within the blood groups. *Acta Pathol. Microbiol. Scand.*, **25**, 728—731.
3. ANDRESEN, P. H. (1948) Blood group with characteristic phenotypical aspects. *Acta Pathol. Microbiol. Scand.*, **24**, 616—618.
4. ANDRESEN, P. H. (1972) Demonstration of  $Le^a$  substance in the saliva of ABH non-secreters. *Vox Sang.*, **23**, 262—269.
5. ANDRESEN, P. H. and JORDAL, K. (1949) An incomplete agglutinin related to the L- (Lewis) system. *Acta Pathol. Microbiol. Scand.*, **26**, 636—638.
6. ARCILLA, M. B. and STURGEON, P. (1973) Studies on the secretion of blood group substances II. Observations on the red cell phenotype  $Le(a-b-x-)$ . *Vox Sang.*, **25**, 72—87.
7. ARCILLA, M. B. and STURGEON, P. (1974)  $Le^x$ , the spurned antigen of the Lewis blood group system. *Vox Sang.*, **26**, 425—438.
8. ÁSZÓDI, L. (1978) *Az emberi vörösvérsejtek alloantigén rendszerei*. Medicina, Budapest
9. AUST, CH., HOCKER, N. D., KELLER, G. Z. and ARBOGAST, J. L. (1962) A family of "Bombay" blood type with suppression of blood group substance  $A_1$ . *Am. J. Clin. Pathol.*, **6**, 579—583.
10. BADET, J., ROPARS, C., CARTRON, J. P. and SALMON, Ch. (1974) Groups of  $\alpha$ -D-galactosyl transferase activity in sera of individuals with normal B phenotype. *Biomedicine [Express]*, **21**, 230—232.
11. BAUER, K. (1973) *Einführung in die Immungenetik*. Gustav-Fischer Verlag, Stuttgart. 3—22, 41—71.
12. BERANOVA, G., PRODANOV, P., HRUBISKO, M. and SMALIK, S. (1969) A new variant in the AB0 blood group system:  $B_H$ . *Vox Sang.*, **16**, 440—450.
13. BHATIA, H. M. (1962)  $A_H$  phenotype. *Vox Sang.*, **7**, 485—487.
14. BHATIA, H. M. (1965) Serology and genetics of the variants of H antigen. *Indian J. Med. Res.*, **54**, 345—353.
15. BHATIA, H. M. (1977) Serologic reactions of AB0 and  $0_H$  (Bombay) phenotypes due to variations in H antigens In: MOHN, J. F., PLUNKETT, R. W., CUMMINGHAM, R. K. and LAMBERT, R. M. (eds.): *Human Blood Groups*. Karger, Basel, pp. 296—305.
16. BHATIA, H. M., SANGHVI, L. D., BHIDE, Y. G. and JHALA, H. I. (1955) Anti-H in two siblings in an Indian family. *J. Ind. Med. Ass.*, **25**, 545—548.
17. BHATIA, H. M. and SATHE, M. S. (1974) Incidence of „Bombay" ( $0_H$ ) phenotype and weaker variants of A and B antigen in Bombay (India). *Vox Sang.*, **27**, 524—532.
18. BHENDE, Y. M., DESHPANDE, C. K., BHATIA, H. M., SANGER, R., RACE, R. R., MORGAN, W. T. J. and WATKINS, W. M. (1952) A „new" blood group character related to the AB0 system. *Lancet*, **1**, 903—904.
19. BOETTCHER, B. (1978) Sequence of action of genes at the secretor, H, AB0 and Lewis loci. *Human Heredity*, **28**, 426—430.
20. BOETTCHER, B. (1978) Blood group antigens. In: BROCK, D. J. H. and MAYO, O. (eds.): *The biochemical genetics of man 2<sup>nd</sup> ed.* Academic Press, London—New York, pp. 325—372.
21. BOORMAN, K., DODD, B. and LINCOLN, P. J. (1978) *Blood group serology*. Churchill Livingstone, London, pp. 161—190.
22. BOSENBERG, von. H. and ESCHÉ, P. V. D. (1967) Untersuchungen eines schwachen Phänotyps der Blutgruppe B. *Arch. Hyg. Bacteriol.*, **151**, 559—564.
23. CARTRON, J. P. (1978) Biosynthesis of human blood group antigens. Main lectures, plenary



- sessions. XVII. Congress of the Int. Soc. of Blood Transfus. Librairie Arnette, Paris, pp. 69-86.
24. CARTRON, J. P., BADET, J., MULET, C. and SALMON, CH. (1978) Study of the  $\alpha$ -N-acetyl-galactosaminyltransferase in sera and red cell membranes of human A subgroups. *J. Immunogenet.*, **5**, 107-116.
  25. CARTRON, J. P., MANNONI, P. and SALMON, CH. (1969) Mesures quantitatives des antigènes A, A<sub>1</sub>, B, H, I et i. Applications à la pathologie. *Rev. Fr. Transfus.*, **13**, 21-27.
  26. CARTRON, J. P., MULET, C., BADET, J., JACQUINET, J. C. and SINAY, P. (1976) Use of two chemically synthesized H acceptors as substrates for A and B blood group specified glycosyltransferases. *FEBS Lett.*, **67**, 143-148.
  27. CARTRON, J. P., MULET, C., BAUVOIS, B., RAHNEL, C. and SALMON, CH. (1980) ABH and Lewis glycosyltransferases in human red cells, lymphocytes and platelets. *Rev. Fr. Transfus. Immunohémat.*, **23**, 271-282.
  28. CEPPELLINI, R. (1955) On the genetics of secretor and Lewis characters: a family study. Proc. 5th. Congr. int. Soc. Blood Transfus., Paris, p. 207-211.
  29. CEPPELLINI, R. (1959) Physiological genetics of human blood group factors, In: WOLSTENSTOLME, G. E. W. and O'CONNOR, C. M. (eds.): *Ciba Found. Symp. on the Biochemistry of Human Genetics*. Churchill, London, pp. 242-261.
  30. CEPPELLINI, R., DUNN, L. C. and INNELLA, F. (1959) Analisi genetica formale dei caratteri Lewis con particolare riguardo alla natura epistatica della specificità serologica Le<sup>b</sup>. *Folia Her. Path.*, **3**, 261-296.
  31. CEPPELLINI, R., NASSO, S. and TECILAZIOH, F. (1952) La malattia emolitica del neonato. Istituto Sieroterapica Milanese Serafino Belfanti, Milano, p. 204.
  32. CEPPELLINI, R. and SINISCALCO, M. (1955) Une nuova ipotesi genetica per il sistema Lewis secretore e suoi riflessi nei riguardi di alcune evidenze di linkage con altri loci, *Rev. Inst. Siero. Ital.*, **36**, 431-445.
  33. CHESTER, M. A. and WATKINS, W. M. (1969)  $\alpha$ -L-fucosyltransferases in human submaxillary gland and stomach tissues associated with the H, Le<sup>a</sup> and Le<sup>b</sup> blood group characters and ABH secretor status. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **34**, 835-842.
  34. CHILDS, R. A., KAPADIA, A. and FEIZI, T. (1980) Expression of blood group I and i active carbohydrate sequences on cultured human and animal cell lines assessed by radioimmunoassays with monoclonal cold agglutinins. *Eur. J. Immunol.*, **10**, 379-384.
  35. CROOKSTON, M. C. (1978) Antigens common to red blood cells and plasma. Main Lectures, plenary sessions. XV. Congress of the Int. Soc. of Blood Transfus., Librairie Arnette, Paris, pp. 51-61.
  36. CROOKSTON, M. C. and TILLEY, CH. A. (1977) A and B and Lewis antigens in plasma. In: MOHN, J. F., PLUNKETT, R. W., CUNNINGHAM, R. K. and LAMBERT, R. M. (eds.): *Human blood groups*. Karger, Basel, pp. 246-256.
  37. DEBEAUX, P., JOUVENEAUX, A., BETHEL, H. and SALMON, CH. (1966) Trois cas de phenotype 0<sub>m</sub><sup>h</sup> dans une famille. *Rev. Med. Tours.*, **2**, 365-370.
  38. DEREVITSKAYA, V., NICOLAI, A., ARBATSKY, P. and KOCHETKOV, N. K. (1978) The structure of carbohydrate chains of blood group substance: isolation and elucidation of the structure of higher oligosaccharides from blood group substance H. *Eur. J. Biochem.*, **86**, 423-437.
  39. DODD, B. E. and LINCOLN, P. J. (1978) Serological studies of the H activity of 0<sub>n</sub> red cells with various anti-H reagents. *Vox Sang.*, **35**, 168-175.
  40. DOINEL, C. ROPARS, C. and RUFIN, J. M. (1980) I and H activities of human red blood cells treated with an 1,2 $\alpha$ -L fucosidase from *Aspergillus niger*. *Rev. Fr. Transfus. Immunohémat.*, **23**, 259-270.
  41. DORF, M. E., ECURO, S. Y., CABRERA, G., YUNIS, E. J., SWANSON, J. and AMOS, D. B. (1972) Detection of cytotoxic non HL-A antisera I. Relationship to anti-Le<sup>a</sup>. *Vox Sang.*, **22**, 447-456.
  42. DUCOS, J., MARTY, Y. and RUFFIÉ, J. (1975) A case of A<sub>x</sub> phenotype transmitted by an A<sub>2</sub>B parent. *Vox Sang.*, **29**, 390-393.
  43. DZIERZKOWA-BORODEJ, W., MEINHARD, W. and NESTOROWICZ, S. (1971) Differences of H specificity of human group 0 erythrocytes. *Arch. Immunol. Ther. Exp. (Warsz.)*, **19**, 593-597.
  44. DZIERZKOWA-BORODEJ, W., MEINHARD, V., NESTOROWICZ, S. and PIROG, J. (1972) Successful elution of anti-A and certain anti-H reagents from two "Bombay" (0<sub>n</sub><sup>A</sup>) blood samples and investigations of isoagglutinins in their sera. *Arch. Immunol. Ther. Exp. (Warsz.)*, **20**, 841-849.
  45. ECONOMIDOU, J., HUGHES-JONES, N. C. and GARDNER, B. (1967) Quantitative measurements concerning A and B antigen sites. *Vox Sang.*, **12**, 321-328.



46. EFROIMSON, V. P. (1971) *Immunogenetika*. Medicina, Moskva, pp. 214—279.
47. FAWCETT, K. J., ECKSTEIN, E. G., INNELLA, F. and YOKOYAMA, M. (1970) Four examples of  $B_m^h$  blood in one family. *Vox Sang.*, **19**, 457—467.
48. FEIZI, T. (1977) Immunochemistry of the Ii blood group antigens. In: MOHN, J. F., PLUNKETT, R. W., CUNNINGHAM, R. K. and LAMBERT, R. M. (eds.): *Human blood groups*. Karger, Basel, pp. 164—171.
49. FEIZI, T., CHILDS, R. A., WATANABE, K. and HAKOMORI, S. I. (1979) Three types of blood group I specificity among monoclonal anti-I autoantibodies revealed by analogues of a branched erythrocyte glycolipid. *J. Exp. Med.*, **149**, 975—980.
50. FEIZI, T. and KABAT, E. A. (1972) Immunochemical studies on blood groups LIV. Classification of anti-I and anti-i sera into groups based on reactivity patterns with various antigens related to the blood group A, B, H,  $Le^a$ ,  $Le^b$  and precursor substances. *J. Exp. Med.*, **135**, 1247—1258.
51. FEIZI, T., KABAT, E. A., VICARI, C., ANDERSON, B. and MARSH, W. L. (1971) Imunochemical studies on blood groups XLVII. The I antigen complex — precursors in the A, B, H,  $Le^a$  and  $Le^b$  blood group system — haemagglutination inhibition studies. *J. Exp. Med.*, **133**, 39—52.
52. FEIZI, T., WOOD, E. and AUJE, C. (1978) Blood group I activities of synthetic oligosaccharides assessed by radioimmunoassay. *Mol. Immunol.*, **15**, 733—736.
53. FIORI, A., GIUSTI, B. V. and PANARI, G. (1971) Gel filtration of ABH blood group substances II. Individual gel chromatographic patterns of ABH substance in saliva of secretors and non-secretors. *J. Chromatography*, **55**, 351—363.
54. FIORI, A., GIUSTI, G. V., PANARI, G. and PORCELLI, G. (1971) Gel filtration of ABH blood group substances I. Fractination of ABH substances of human saliva. *J. Chromatography*, **55**, 337—349.
55. FRASER-ROBERTS, J. A. and PEMBREY, M. E. (1978) *An intraduction to medical genetics*. Oxford University Press, Oxford, 7th ed., pp. 123—143, 209—255.
56. FRIEDENREICH, V. and HARTMANN, G. (1938) Über die Verteilung der Gruppenantigene im Organismus der sogenannten „Ausscheider“ und „Nichtausscheider“. *Z. Immunitätsforsch. Exp. Ther.*, **92**, 141—145.
57. FUDENBERG, H. H., PINK, J. R. L., WANG, A. CH. and DOUGLAS, S. D. (1978) *Basic Immunogenetics*. Oxford University Press, New York, pp. 182—233.
58. GALLASCH, E. (1978) Bombay phenotypes *Vox Sang.*, **35**, 436.
59. GANDINI, E. SACCHI, R., REALI, G., VERATTI, M. A. and MENINI, C. (1968) A case of Lewis negativ „Bombay“ blood type. *Vox Sang.*, **15**, 142—146.
60. GARDAS, A. and KOSCIELAK, J. (1974) I-active antigen of human erythrocyte membrane. *Vox Sang.*, **26**, 227—237.
61. GARDAS, A. and KOSCIELAK, J. (1974) Megalglycolipids-unusually complex glycosphingolipids of human erythrocyte membrane with A, B, H and I blood group specificity. *FEBS Lett.*, **42**, 101—104.
62. GARETTA, M., MÜLLER, A., GENER, J. and MOULLEC, J. (1974) Sousgroupes faibles de A et de AB. *Rev. Fr. Transfus.*, **17**, 41—48.
63. GENETET, B. and MANNONI, P. (1978) *La transfusion*. Flammarion Médecine Sciences, Paris, pp. 395—426.
64. GERARD, G., GUIMBRETIERE, L., LEBOT, S. and GUIMBRETIERE, J. (1975) Un nouveau cas de  $A_H$ . *Rev. Fr. Transfus. Immunohématol.*, **18**, 321—323.
65. GIBLETT, E. R. (1977) Some perspectives on blood group genetics and immunology. In: MOHN, J. F., PLUNKETT, R. W., CUNNINGHAM, R. K. and LAMBERT, R. M. (eds.): *Human blood groups*. Karger, Basel, pp. 437—448.
66. GIBLETT, E. R. (1979) Immunogenetics of blood groups and other genetic markers. *Rev. Fr. Transfus. Immunohématol.*, **22**, 59—68.
67. GOLD, E. R. (1964) Observation on the specificity of anti-0 and anti- $A_1$  sera. *Vox Sang.*, **9**, 153—159.
68. GOLDRING, O. J., CLEGG, J. A., SMITHEERS, S. R. and TERRY, R. J. (1976) Acquisition of human blood group antigens by *Schistosoma mansoni*. *Clin. Exp. Immunol.*, **26**, 181—187.
69. GRAHAM, H. A., HIRSCH, H. F. and DAVIES, D. M. JR. (1977) Genetic and immunochemical relationships between soluble and cell-bound antigens of the Lewis system. In: MOHN, J. F., PLUNKETT, R. W., CUNNINGHAM, R. K., and LAMBERT, R. M. (eds.): *Human blood groups*. Karger, Basel, pp. 257—267.
70. GREENWALT, T. J. (1961) Confirmation of linkage between the Lutheran and secretor genes. *Am. J. Hum. Genet.*, **13**, 69—88.
71. GROLLMAN, E. F., KOBÁTA, A. and GINSBURG, V. (1969) An enzymatic basis for Lewis blood types in man. *J. clin. Invest.*, **43**, 1489—1494.



72. GRUBB, R. (1948) Correlation between Lewis blood group and secretor character in man. *Nature*, **162**, 933.
73. GRUBB, R. (1951) Observations on the human group system Lewis. *Acta Pathol. Microbiol. Scand.*, **28**, 61—68.
74. GUNDOLF, F. and ANDERSEN, J. (1970) Variant of group B lacking the B antigen on the red cells. *Vox Sang.*, **18**, 216—221.
75. GUNSON, H. H. and LATHAM, V. (1972) An agglutinin in human serum reacting with cells from Le(a-b-) non-secretor individuals. *Vox Sang.*, **22**, 344—353.
76. HAKIM, S. A., VYAS, G. N., SANGHVI, L. D. and BHATIA, H. M. (1961) Eleven cases of "Bombay" phenotype in six families: suppression of AB0 antigen demonstrated in two families. *Transfusion*, **1**, 218—222.
77. HAKOMORI, S. I. and ANDREWS, H. D. (1970) Sphingoglycolipids with Le<sup>b</sup> activity and the copresence of Le<sup>a</sup>, Le<sup>b</sup> glycolipides in human tumor tissue. *Biochim. Biophys. Acta*, **202**, 225—228.
78. HAKOMORI, S. I. and KOBATA, A. (1974) Blood group antigens. In: SELA, M. (ed.): *The antigens*. Academic Press, New York, Vol. 2, pp. 79—140.
79. HAKOMORI, S. I. and STRYCHARZ, G. O. (1968) Investigation on cellular blood group substances. I. Isolation and chemical composition of blood group ABH and Le<sup>b</sup> isoantigens of sphingoglycolipid-nature. *Biochemistry*, **7**, 1279—1286.
80. HAKOMORI, S. I., WATANABE, K. and LAINE, R. A. (1977) Glycosphingolipids with blood group A, H, and I activity their status in group A<sub>1</sub> and A<sub>2</sub> erythrocytes and their changes associated with ontogeny and oncogeny. In: MOHN, J. F., PLUNKETT, R. W., CUNNINGHAM, R. K. and LAMBERT, R. M. (eds.): *Human blood groups*. Karger, Basel, pp. 150—163.
81. HARTMANN, G. (1941) *Group antigens in human organs*. Munksgaard, Copenhagen
82. HANFLAND, P. (1978) Isolation and purification of Lewis blood group active glycosphingolipids from the plasma of human OLe<sup>b</sup> individuals. *Eur. J. Biochem.*, **87**, 161—170.
83. HEARN, V. M., RACE, C. and WATKINS, W. M. (1972)  $\alpha$ -N-acetylgalactosaminyl and  $\alpha$ -galactosyltransferases in human ovarian cyst epithelial linings and fluids. *Biochem. Biophys. Rev. Commun.*, **46**, 948—956.
84. HEARN, V. M., SMITH, Z. G. and WATKINS, W. M. (1968) An  $\alpha$ -N-acetylgalactosaminyltransferase associated with the human blood group A character. *Biochem. J.*, **109**, 315—317.
85. HILDEMANN, W. M. (1970) *Immunogenetics*. Holden-Day, San Francisco, pp. 1—30, 92—128.
86. HIRSCH, H. F., GRAHAM, H. A. and DAVIES, D. M. JR. (1975) The relationship of the Le<sup>c</sup> and Le<sup>d</sup> antigens to the Lewis, secretor and ABH systems. *Transfusion*, **15**, 521.
87. HOLBURN, A. M. and MASTERS, C. A. (1974) The radioimmunoassay of serum and salivary blood group A and Le<sup>a</sup> glycoproteins. *Brit. J. Haematol.*, **28**, 157—167.
88. HORVÁTH, E. (1979) *Vércsoportok*. Medicina, Budapest.
89. HRUBISKO, M. (1968) Exemple d'une interaction allélique chez l'homme: interaction entre une variante du gene B (B<sub>x</sub> ou B<sub>20</sub>) et A<sub>2</sub>. *Nouv. Rev. Fr. Hematol.*, **8**, 278—289.
90. HRUBISKO, M., KLINDA, F., KRISLO, V., and MERGANCOVA, O. (1977) Variants due to H deficiency. In: MOHN, J. F., PLUNKETT, R. W., CUNNINGHAM, R. K. and LAMBERT, R. M. (eds.): *Human blood groups*. Karger, Basel, pp. 306—315.
91. HRUBISKO, M., LALUHA, J., MERGANCOVA, O. and ZAKOVICOVA, S. (1970) New variants in the AB0/H blood group system due to interaction of recessive genes controlling the formation of H antigen in erythrocytes. The "Bombay" like phenotypes 0<sub>Hm</sub>, 0<sub>Hm</sub><sup>B</sup> and 0<sub>Hm</sub><sup>AB</sup>. *Vox Sang.*, **19**, 113—122.
92. HRUBISKO, M. and MERGANCOVA, O. (1966) Beobachtungen über Varianten des Blutgruppensystems AB0 III. Die neuen Varianten 0<sub>Hm</sub> und A<sub>Hm</sub>. Ein Beitrag zur Frage der Biosynthese der Blutgruppen Antigene. *Blut*, **13**, 278—285.
93. HRUBISKO, M., MERGANCOVA, O. and PRODANOV, P. (1969) Variant 0<sub>H</sub> A<sub>1</sub>. *Vnitr. Lek.*, **15**, 696—700.
94. HRUBISKO, M., PRODANOV, P., CALKOWSKA, Z. and MERGANCOVA, O. (1970) Beobachtungen über Varianten des Blutgruppensystems AB0 IV. Weitere Beobachtungen der Variante A<sub>Hm</sub>. *Blut*, **21**, 168—176.
95. ISEKI, S. and MASAKI, S. (1953) Transformation of blood group substance by bacterial enzyme. *Proc. Jpn. Acad.*, **29**, 460—465.
96. ISSITT, P. D. (1978) Blood group gene interactions. A review of some known examples and the description of a new one, involving the MN and Wright blood group systems. *Med. Lab. Sci.*, **35**, 3—18.
97. ISSITT, P. D. and ISSITT, C. H. (1975) *Applied blood group serology*. Spectra Biologicals. Oxnard.



98. JAKOBOWICZ, R., WHITTINGHAM, S. and SIMMONS, R. T. (1961) Investigations on two examples of the "Bombay" type  $O_h$  blood, possibly  $O_h^A$  of the AB0 system, found in two women siblings of Greek origin. *Med. J. Aust.*, **2**, 868—871.
99. JEANNET, M., BODMER, J. G., BODMER, W. F. and SCHAPIRA, M. (1973) Lymphocytotoxic sera associated with the AB0 and Lewis red cell blood groups. In: DAUSSET, J. and COLOMBANI, J. (eds.): *Histocompatibility Testing*. 1972, Munksgaard, Copenhagen, pp. 493—499.
100. JORDAL, K. (1958) The Lewis factors  $Le^b$  and  $Le^x$  and a family series tested by anti- $Le^a$  and  $Le^x$  *Acta Pathol. Microbiol. Scand.*, **42**, 269—284.
101. JOUVENCEAUX, A. (1978) *Immuno-hématologie*. Simep-Editions, Villeurbanne, pp. 31—50.
102. KABAT, E. A. (1956) *Blood group substances. Their chemistry and immunochemistry*. Academic Press, New York.
103. KABAT, E. A. (1973) Immunochemical studies on the carbohydrate moiety of water-soluble A, B, H,  $Le^a$  and  $Le^b$  substances and their precursor I antigens. Chemistry of carbohydrates in solution. *Adv. Chem. Ser.* **117**, 334—361.
104. KIMBERLING, W. J. (1979) The genetics of an expanded secretor system. *J. Immunogenet.*, **6**, 75—82.
105. KITAHAMA, M., YAMAGUCHI, H., OKUBO, Y. and HAZAMA, E. (1967) An apparently new  $B_h$  like human blood type. *Vox Sang.*, **12**, 354—360.
106. KOBATA, A., GROLLMAN, E. F. and GINSBURG, V. (1968) An enzymatic basis for blood type A in humans. *Arch. Biochem. Biophys.*, **124**, 609—612.
107. KOBATA, A., GROLLMAN, E. F. and GINSBURG, V. (1968) An enzymatic basis for blood type B in humans. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **32**, 272—277.
108. KOGURE, T. and FURUKAWA, K. (1976) Enzymatic conversion of human group O red cells into group B active cells by  $\alpha$ -D-galactosyltransferases of sera and salivas from group B and its variant types. *J. Immunogenet.*, **3**, 147—154.
109. KOGURE, T. and ISEKI, S. (1970) A family of  $B_m$  due to a modifying gene. *Proc. Jpn. Acad.*, **46**, 728—732.
110. KOGURE, T., TOHYAMA, H. and ISEKI, S. (1968) An  $A_{2H}$ -like blood group with very weak H antigen. *J. Jpn. Soc. Blood Transfus.*, **15**, 161.
111. KOSCIELAK, J. (1977) Chemistry and biosynthesis of erythrocytic membrane glycolipids with A, B, H and I blood group activities In: MOHN, J. F., PLUNKETT, R. W., CUNNINGHAM R. K. and LAMBERT, R. M. (eds.): *Human-Blood Groups*. Karger, Basel, pp. 134—142.
112. KUSNIERZ, G. and LESKIEWICH, A. (1971) Studies of the ABH component of human newborn erythrocytes. *Arch. Immunol. Ther. Exp. (Warsz.)*, **19**, 635—641.
113. LANDSTEINER, K. (1900) Zur Kenntnis der antifermentativen lytischen und agglutinierenden Wirkungen des Blutserums und der Lymphe. *Zentralbl. Bakteriol.*, **27**, 357—362.
114. LANDSTEINER, K. (1901) Über Agglutinationserscheinungen normalen menschlichen Blutes. *Klin. Wochenschr.*, **14**, 1132—1134.
115. LANSSET, S., ROPARTZ, C., ROUSSEAU, P. Y., GUERBET, Y. and SALMON, CH. (1966) Une famille comportant les phénotypes Bombay:  $O_h^{AB}$  et  $O_h^B$ . *Transfusion (Paris)*, **9**, 255—263.
116. LEHR, H. (1930) Über Gruppenspezifische Eigenschaften des menschlichen Speichels. *Z. Immunitätsforsch. Exp. Ther.*, **66**, 175—192.
117. LEMIEUX, R. U., BOCK, K., DELBAERE, L. T. J., KOTO, S. and RAO, V. S. (1980) The conformations of oligosaccharides related to the ABH and Lewis human blood group determinants. *Can. J. Biochem.*, **58**, 631—638.
118. LEVINE, P., ROBINSON, E., CELANO, M., BRIGGS, O. and FALKINBURG, L. (1955) Gene interaction resulting in suppression of blood group substance B. *Blood*, **10**, 1100—1108.
119. LEVINE, P., UHLIR, M. and WHITE, J. (1961)  $A_h$ , an incomplete suppression of A resembling  $O_h$ . *Vox Sang.*, **6**, 561—567.
120. LIBERGE, O., SALMON, CH., GERBAL, A. and LOPEZ, M. (1970) Le phénotype  $B_h$ : étude immunologique et génétique d'un cas. *Rev. Fr. Transfus.*, **13**, 357—363.
121. LILL, P. H., STEJSKAL, R. and MLSNA, J. (1979) Distribution of H antigen in persons of blood groups A, B and AB. *Vox Sang.*, **36**, 159—165.
122. LLOYD, K. D. and KABAT, E. A. (1968) Immuno-chemical studies on blood groups. XLI. Proposed structures for the carbohydrate portions of blood group ABH, Lewis<sup>a</sup> and Lewis<sup>b</sup> substances. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **60**, 1470—1477.
123. MARCUS, D. M. (1969) The AB0 and Lewis blood group systems. *New Engl. J. Med.*, **280**, 994—1006.
124. MARCUS, D. M. and CASS, L. E. (1969) Glycosphingolipids with Lewis blood group activity. Uptake by human erythrocytes. *Science*, **164**, 553—555.



125. MARR, A. M. S., DONALD, A. S. R., WATKINS, W. M. and MORGAN W. T. J. (1967) Molecular and genetic aspects of human blood group Le<sup>b</sup> specificity. *Nature*, **215**, 1345—1349.
126. MARSH, W. L., FERRARI, M., NICHOLS, M. E., FERNANDEZ, C. and COOPER, K. (1973) B<sub>m</sub><sup>H</sup>: a weak B antigen variant. *Vox Sang.*, **25**, 341—346.
127. MATSUMOTO, I. and OSAWA, T. (1971) On the specificity of various heterologous anti-H hemagglutinins. *Vox Sang.*, **21**, 548—557.
128. MEDVEDEV, S. A., LIKHOSHERSTOV, L. M. and DEREVITSKAJA, V. A. (1977) Isolation of glycopeptides containing the disaccharide galactosyl-N-acyetylglucosamine from blood group substances. *Vestn. Akad. Med. Nauk. SSSR. D. Chim. Nauk.*, **25**, 2640—2643.
129. MOHR, J. (1951) A search for linkage between the Lutheran blood group and other hereditary characters. *Acta Pathol. Microbiol. Scand.*, **28**, 207—210.
130. MOLLISON, P. L. (1979) *Blood transfusion in clinical medicine*. 6<sup>th</sup> ed. Blackwell Scientific Publications, Oxford, pp. 239—291.
131. MOORES, P. P., ISSITT, P. D., PAVONE, B. G. and MCKEEVER, B. G. (1975) Some observations on Bombay bloods, with comments on evidence for the existence of two different O<sub>h</sub> phenotypes. *Transfusion*, **15**, 237—243.
132. MORGAN, W. T. J. (1960) A contribution to human biochemical genetics: the chemie basis of blood group specificity (The Croonian Lecture) *Proc. Royal Soc. (London) Ser. B*, **151**, 308—347.
133. MORGAN, W. T. J. (1974) Immunological specificity of carbohydrate structures. From Pasteur to the present day. *Bull. Inst. Pasteur*, **72**, 131—155.
134. MORGAN, W. T. J. and WATKINS, W. M. (1948) The detection of a product of the blood group O gene and the relationship of the so-called O substance to the agglutinogens A and B. *Br. J. exp. Pathol.*, **29**, 159—173.
135. MORGAN, W. T. J. and WATKINS, W. M. (1969) Genetic and biochemical aspects of human blood group A-B-H-Le<sup>a</sup> and Le<sup>b</sup> specificity. *Br. Med. Bull.*, **25**, 30—34.
136. MOURANT, A. E. (1946) A new human blood group antigen of frequent occurrence. *Nature*, **158**, 237.
137. MOURANT, A. E., KOPEC, A. C. and DOMANIEWSKA-SOBCZAK, K. (1976) *The distribution of the human blood groups and other polymorphisms.*, 2<sup>nd</sup> ed. Oxford University Press, Oxford.
138. MULET, C., CARTRON, J. P., BADET, J. and SALMON, CH. (1977) Activity of 2- $\alpha$ -L-fucosyltransferase in human sera and red cell membrane. A study of common ABH blood donors, rare "Bombay" and "Parabombay" individuals. *FEBS Lett.*, **84**, 74—78.
139. MULET, C., CARTRON, J. P., LOPEZ, M. and SALMON, CH. (1978) ABH glycosyltransferase levels in sera and cell membranes from H<sub>2</sub> and H<sub>m</sub> variant bloods *FEBS Lett.*, **90**, 233—238.
140. MULET, C., CARTRON, J. P., SCHENKEL-BRÜNNER, H., BUCHET, D., SINAY, P. and SALMON, CH. (1979) Probable biosynthetic pathway for the synthesis of the B antigen from B<sub>h</sub> variants. *Vox Sang.*, **37**, 272—280.
141. NICHOLAS, J. W., JENKINS, W. J. and MARSH, W. L. (1957) Human blood chimaera. *Br. med. J.*, **1**, 1458—1460.
142. ORIOL, R., CARTRON, J. P., CARTRON, J. and MULET, C. (1980) Biosynthesis of ABH and Lewis antigens in normal and transplanted kidneys. *Transplantation*, **29**, 184—188.
143. ORIOL, R., CARTRON, J., YVART, J., BARIET, J., GLÜCKMAN, J. C. and GAGNADOUX, M. F. (1978) The Lewis system new histocompatibility antigens in renal transplantation. *Lancet*, **1**, 574—575.
144. PACUSZKA, T. and KOSCIELAK, J. (1974)  $\alpha$ 1-2 fucosyltransferase of human bone marrow. *FEBS Lett.*, **41**, 348—351.
145. PARKIN, D. M. (1956) Study of a family with unusual ABO phenotypes. *Br. J. Hematol.*, **2**, 106—110.
146. PETROVSKY, B. V. (1979) *Rukovodstvo po obscej i kliniceszkoj transfuziologii*. Medicina, Moskva, pp. 114—142.
147. PETTENKOFER, H. J., LUBOLOT, W., LAWOHN, H. and NIEBUHR, R. (1960) Über genetische Suppression der Blutgruppen ABO Untersuchungen an einer Familie, bei der die Unterdrückung nicht das Blutgruppenmerkmal B betrifft. *Z. Immunitätsforsch.*, **120**, 288—294.
148. PIGMAN, W. (1977) Blood group glycoproteins. In: HOROWITZ, M. I. and PIGMAN, W. (eds.): *Glycoconjugates*. Vol. 1. Academic Press, New York, pp. 181—256.
149. POTAPOV, M. I. (1970) Detection of the antigen of the Lewis system, characteristic of the erythrocytes of the secretor group Le(a-b-). *Probl. Gematol. Preliv. Krov. (Moskva)*, **11**, 45—49.
150. POTAPOV, M. I. (1976) Production of immune anti-Lewis sera in goats. *Vox Sang.*, **30**, 211—213.



151. PRODANOV, P. (1978) Étude des variantes H-déficientes dans la population bulgare. *Rev. Fr. Transfus. Immunohématol.*, **21**, 1093—1102.
152. PROHASKA, R., SCHENKEL-BRUNNER, H. and TUPPY, H. (1978) Enzymatic synthesis of blood group Lewis specific glycolipids. *Eur. J. Biochem.*, **84**, 161—166.
153. PUTKONEN, T. (1930) Über die gruppenspezifischen Eigenschaften verschiedener Körperflüssigkeiten. *Acta Soc. Med. Fenn Duodecim Ser. A*, **14**, 12.
154. RACE, R. R. and SANGER, R. (1975) *Blood Groups in Man*. 6<sup>th</sup> ed. Blackwell Scientific Publ., Oxford, pp. 8—91, 311—349.
155. RACE, C. and WATKINS, W. M. (1969) Properties of an  $\alpha$ -D-galactosyltransferase in human tissues obtained from blood group B donors. *Biochem. J.*, **114**, 86.
156. RACE, C. and WATKINS, W. M. (1972) The enzymic products of the human A and B blood group genes in the serum of "Bombay" O<sub>h</sub> donors. *FEBS Lett.*, **27**, 125—130.
157. RACE, C. and WATKINS, W. (1972) The action of the blood group B gene-specified  $\alpha$ -galactosyltransferase from human serum and stomach mucosal extracts on group O and "Bombay" O<sub>h</sub> erythrocytes. *Vox Sang.*, **23**, 385—401.
158. REGE, V. P., PAINTER, T. J., WATKINS, W. M. and MORGAN, W. T. J. (1963) Three new trisaccharides obtained from human blood-group A, B, H and Le<sup>a</sup> substances, possible sugar sequences in the carbohydrate chains. *Nature*, **200**, 532—534.
159. REGE, V. P., PAINTER, T. J., WATKINS, W. M. and MORGAN, W. T. J. (1964) Isolation of serologically active fucose-containing oligosaccharides from human blood group H substance. *Nature*, **203**, 360.
160. RENDEL, J., NEIMANN-SØRENSEN, A. and IRWIN, M. R. (1954) Evidence for epistatic action of genes for antigenic substance in sheep. *Genetics*, **39**, 396—408.
161. REVIRON, J., JACQUET, A., DELARUE, F., LIBERGE, G., SALMON, D. and SALMON, CH. (1967) Allelic interactions of A B O blood group genes. Preliminary results with anti-B of "cis AB" subject and quantitative study with anti-B of an A<sub>1</sub>O subject. *Nouv. Rev. Fr. Hematol.*, **7**, 425—433.
162. RODIER, L., LOPEZ, M., LIBERGE, G., BADET, J., GERBAL, A. and SALMON, CH. (1974) Absorption et élution d'anti-H sur des hématies de phénotype Bombay. *Biomédecine [Express]*, **21**, 312—316.
163. ROVIS, L., ANDERSON, B., KABAT, E. A., GRUEZO, F. and LIAO, J. (1973) Structures of oligosaccharides produced by base-borohydride degradation of human ovarian cyst blood group H, Le<sup>b</sup> and Le<sup>a</sup> active glycoproteins. *Biochemistry*, **12**, 5340—5354.
164. RUBINSTEIN, P., ALLEN, F. H. JR. and ROSENFELD, R. E. (1973) A dominant suppressor of A and B. *Vox Sang.*, **25**, 377—381.
165. SALMON, CH. and CARTRON, J. P. (1976) Allelic enhancement. *Rev. Fr. Transfus.*, **19**, 145—155.
166. SALMON, CH. and CARTRON, J. P. (1977) ABO blood group system. In: GREENWALT, T. J. and STEANE, E. A. (Section eds.): *CRC Handbook Series in Clinical Laboratory Science*. Section D: *Blood Banking*. Vol. 1. CRC Press, Inc., Cleveland, pp. 69—220.
167. SALMON, CH. and CARTRON, J. P. (1977) The ABH secretion system. In: GREENWALT, T. J. and STEANE, E. A. (Section eds.): *CRC Handbook Series in Clinical Laboratory Science*. Section D: *Blood Banking*. Vol. 1. CRC Press, Inc., Cleveland, pp. 245—256.
168. SALMON, CH. and CARTRON, J. P. (1977) The Hh blood group system. In: GREENWALT, T. J. and STEANE, E. A. (Section eds.): *CRC Handbook Series in Clinical Laboratory Science*. Section D: *Blood Banking*. Vol. 1. CRC Press, Inc., Cleveland, pp. 221—241.
169. SALMON, CH. and CARTRON, J. P. (1977) The Lewis blood group system. In: GREENWALT, T. J. and STEANE, E. A. (Section eds.): *CRC Handbook Series in Clinical Laboratory Science*. Section D: *Blood Banking*. Vol. 1. CRC Press, Inc., Cleveland, pp. 309—340.
170. SALMON, CH., CARTRON, J. P., ROUGER, PH., LIBERGE, G., JUSZCZAK, G., MULET, C. and LOPEZ, M. (1980) H deficient phenotypes. A proposed practical classification Bombay, A<sub>h</sub>, H<sub>2</sub>, H<sub>m</sub>. *Rev. Fr. Transfus. Immunohématol.*, **23**, 233—256.
171. SALMON, CH. and DOINEL, C. (1977) I and i antigens. In: GREENWALT, T. J. and STEANE, E. A. (Section eds.): *CRC Handbook Series in Clinical Laboratory Science*. Section D: *Blood Banking*. Vol. 1. CRC Press, Inc., Cleveland, pp. 257—271.
172. SALMON, CH., JUSZCZAK, G., LIBERGE, G., LOPEZ, M., CARTRON, J. P. and KLING, C. (1978) Une famille ou un phénotype "H<sub>m</sub>" est transmis à travers trois générations. *Rev. Fr. Transfus. Immunohématol.*, **21**, 21—27.
173. SALMON, CH., SALMON, D. and REVIRON, J. (1965) Étude immunologique et génétique de la variabilité du phénotype A<sub>x</sub>. *Nouv. Rev. Fr. Hematol.*, **5**, 275—290.
174. SALMON, CH., SCHWARTZENBERG, L. and ANDRÉ, R. (1959) Serologic and genetic observations on A<sub>3</sub> blood group. *Le Sang.*, **30**, 227—236.



175. SANGER, R., and RACE, R. R. (1958) The Lutheran-secretor linkage in man: support for Mohr's findings. *Heredity*, **12**, 513—520.
176. SATHE, M. and BHATIA, H. M. (1976) Bombay ( $0_h$ ) phenotype in two generations in an Indian family. *Vox Sang.*, **30**, 312—314.
177. SAVICKA, T. (1971) Glycosyltransferases of human plasma. *FEBS Lett.*, **16**, 346—348.
178. SCHENKEL-BRUNNER, H. (1980) Blood group ABH antigens of human erythrocytes. Quantitative studies on the distribution of H antigenic sites among different classes of membrane components. *Eur. J. Biochem.*, **104**, 529—534.
179. SCHENKEL-BRUNNER, H., CHESTER, M. A. and WATKINS, W. M. (1972)  $\alpha$ -L-fucosyltransferases in human serum from donors of different AB0, secretor and Lewis blood group phenotypes. *Eur. J. Biochem.*, **30**, 269—277.
180. SCHENKEL-BRUNNER, H., PROHASKA, R. and TUPPY, H. (1975) Action of glycosyltransferases upon "Bombay"  $0_h$  erythrocytes. Conversion to cells showing blood group H and A specificities. *Eur. J. Biochem.*, **56**, 591—594.
181. SCHENKEL-BRUNNER, H. and TUPPY, H. (1970) Enzymes from human gastric mucosa conferring blood group A and B specificities on erythrocytes. *Eur. J. Biochem.*, **17**, 218—222.
182. SCHIFF, F. and SUZAKI, H. (1932) Der Ausscheidungstypus ein auf serologischem Wege nachweisbares mendeln des Merkmal. *Klin. Wochenschr.*, **11**, 1426—1429.
183. SEAMAN, M. J., CHALMAS, D. G. and FRANKS, D. (1968) Siedler an antibody which reacts with  $A_1Le(a-b+)$  red cells. *Vox Sang.*, **15**, 25—30.
184. SHEN, L., GROLLMANN, E. F. and GINSBURG, V. (1968) An enzymatic basis for secretor status and blood group substance specificity in humans. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **59**, 224—230.
185. SIMMONS, R. T. and JAKOBOWICZ, R. (1951) The Lewis blood antigens and antibodies. *Med. J. Aust.*, **1**, 497—500.
186. SMITH, E. L., MCKIBBIN, J. M., KARLSSON, K. A., PASCHER, I., SAMUELSSON, B. E., YU-TEH LI and LI SU CHEN (1975) Characterization of a human intestinal fucolipid with blood group  $Le^a$  activity. *J. Biol. Chem.*, **250**, 6059—6064.
187. SNEATH, J. S. and SNEATH, P. H. A. (1955) Transformation of the Lewis groups of human red cells. *Nature*, **176**, 172.
188. SOLOMON, J. M. (1964) Quantitative studies of the reactions of *Ulex europaeus* extracts. *Transfusion*, **4**, 3—9.
189. SOLOMON, J. M., WAGGONER, R. and LEYSHON, W. C. (1965) A quantitative immunogenetic study of gene suppression involving  $A_1$  and H antigens of the erythrocyte without affecting secreted blood group substances. The ABH phenotypes  $A_m^h$  and  $0_m^h$ . *Blood*, **25**, 470—485.
190. SRINGARM, S., CHUTAMARD, C. and GILES, C. M. (1972) The use of *Ulex europaeus* and *Dolichos biflorus* extracts in routine AB0 grouping of blood donors in Thailand. *Vox Sang.*, **23**, 537—545.
191. STEALEY, J. R. (1974) Ph. D. Thesis University of London cit.: WATKINS, W. M. In: Genetic regulation of the structure of blood group specific glycoproteins. *Biochem. Soc. Symp.*, **40**, 125—146.
192. STELLNER, K., WATANABE, K. and HAKOMORI, S. (1973) Isolation and characterization of glycosphingolipids with blood group H specificity from membranes of human erythrocytes. *Biochemistry*, **12**, 656—661.
193. STONE, W. H. (1967) Immunogenetics of type-specific antigens in animals. In: GREENWALT, T. J. (ed.): *Advances in immunogenetics*. J. B. Lippincott Comp., Philadelphia, pp. 173—215.
194. STORMONT, C. (1949) Acquisition of the J-substance by bovine erythrocytes. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **35**, 232—237.
195. STURGEON, P. and ARCILLA, M. B. (1970) Studies on the secretion of blood group substances I. Observations on the red cell phenotype  $Le(a+b-x+)$ . *Vox Sang.*, **18**, 301—322.
196. SZULMAN, A. E. and MARCUS, D. M. (0000) The histologic distribution of the blood group substances in man as disclosed by immunofluorescence VI. The  $Le^a$  and  $Le^b$  antigens during fetal development. *Lab. Invest.*, **28**, 565—574.
197. THOMPSON, J. S. and THOMPSON, M. W. (1980) *Genetics in Medicine 3<sup>rd</sup> ed.* Saunders Comp., Philadelphia—London, pp. 200—227.
198. TILLEY, C. A., CROOKSTON, M. C., BROWN, B. L. and WHERRETT, J. R. (1975) A and B and  $A_1Le^b$  substances in glycosphingolipid fractions of human serum. *Vox Sang.*, **28**, 25—33.
199. VOAK, D. and LODGE, T. W. (1968) The role of H in the development of A. *Vox Sang.*, **15**, 345—352.



200. VOAK, D., STAPLETON, R. R. and BOWLEY, C. C. (1968) A<sub>2H</sub><sup>A</sup> a new variant of A<sub>H</sub>, in two group A members of an English family. *Vox Sang.*, **14**, 18—30.
201. WATANABE, K., HAKOMORI, S., CHILDS, R. A. and FEIZI, T. (1979) Characterization of a blood group I active ganglioside. Structural requirements for I and i specificities. *J. Biol. Chem.*, **254**, 3221—3227.
202. WATANABE, K., LAINE, R. A. and HAKOMORI, S. (1975) On neutral fucoglycolipids having long, branched carbohydrate chains H-active and I active glycosphingolipids of human erythrocyte membranes. *Biochemistry*, **14**, 2725—2732.
203. WATKINS, W. M. (1956) The appearance of H specificity following the enzymic inactivation of blood group B substance. *Biochemistry*, **64**, 21—22.
204. WATKINS, W. M. (1959) Some genetical aspects of the biosynthesis of human blood group substances. In: WOLSTENTROLME, G. E. W. and O'CONNOR, C. M. (eds.): *Biochemistry of Human Genetics*. Ciba Found. Symp. Churchill, London. pp. 217—238.
205. WATKINS, W. M. (1970) Biosynthesis of blood group substances, current concepts and result. In: AMINOFF D. (ed.): *Blood and Tissue Antigens*. Academic Press, New York, pp. 441—460.
206. WATKINS, W. M. (1972) Blood group specific substances. In: GOTTSCHALK, R. (ed.): *Glycoproteins, their compositions, structure and function 2<sup>nd</sup> ed.* Elsevier, Amsterdam. Vol. 5., Chapter 7., Section 5., pp. 830—947.
207. WATKINS, W. M. (1974) Genetic regulation of the structure of blood group specific glycoproteins. *Biochem. Soc. Symp.*, **40**, 125—148.
208. WATKINS, W. M. (1974) Blood group substances: their nature and genetics. In: SURGENOR, D. M. (ed.): *The red blood cell. 2<sup>nd</sup> ed.* Academic Press, New York, pp. 293—360.
209. WATKINS, W. M. (1977) The glycosyltransferase products of the A, B, H and Le genes and their relationship to the structure of the blood group antigens. In: MOHN, J. F., PLUNKETT, R. W., CUNNINGHAM R. K. and LAMBERT, R. M. (eds.): *Human blood groups*. pp. 134—142. Karger, Basel.
210. WATKINS, W. M. (1978) Genetics and biochemistry of some human blood groups. *Proc. Royal Soc. Lond. Ser. B*, **202**, 31—53.
211. WATKINS, W. M. (1979) Biochemistry of blood cell membrane antigens. *Rev. Fr. Transfus. Immunohématol.*, **22**, 35—58.
212. WATKINS, W. M. and MORGAN, W. T. J. (1955) Some observations on the 0 and H characters of human blood and secretions. *Vox Sang.*, **5**, 1—14.
213. WATKINS, W. M. and MORGAN, W. T. J. (1959) Possible genetical pathways for the biosynthesis of blood group mucopolysaccharides. *Vox Sang.*, **4**, 97—119.
214. WEINER, W., LEWIS, H. B. M., MOORES, P., SANGER, R. and RACE, R. R. (1957) A gene, y, modifying the blood group antigen A. *Vox Sang.*, **2**, 25—37.
215. WIENER, A. S., MOOR-JANKOWSKI, J. and GORDON, E. B. (1966) The relationship of the H substance to the AB0 blood groups. *Int. Arch. Allergy Appl. Immunol.*, **29**, 82—100.
216. WIENER, A. S., SOCHA, W. W. and GORDON, E. B. (1972) The relationship of the H specificity to the AB0 blood groups. *Ann. Génét.*, **15**, 75—78.
217. WILCZYNSKA, Z., MILLER-PODRAZA, M. and KOSCIELAK, J. (1980) The contribution of different glycoconjugates to the total ABH blood group activity of human erythrocytes. *FEBS Lett.*, **112**, 277—279.
218. WROBEL, D. M., McDONALD, I., RACE, C. and WATKINS, W. M. (1974) "True" genotype of chimeric twins revealed by blood group gene products in plasma. *Vox Sang.*, **27**, 395—402.
219. YAZAWA, S. and FURUKAWA, K. (1980)  $\alpha$ -L-fucosyl-transferases related to biosynthesis of blood group substances in human saliva. *J. Immunogenet.*, **7**, 137—148.
220. YOSHIDA, A. (1980) Biochemical genetics of human blood group (AB0) expression. *Seikagatu. J. Japan. Biochem. Soc.*, **52**, 211—221.
221. YOSHIDA, A., SCHMIDT, G. A., BLUME, K. G. and BEUTLER, E. (1980) Plasma blood group glycosyltransferase activities after bone marrow transplantation. *Blood*, **55**, 699—701.
222. YOSHIDA, A., YAMAGUCHI, Y. F. and DAVÉ, V. (1979) Immunologic homology of human blood group glycosyltransferases and genetic background of blood group (AB0) determination. *Blood*, **54**, 344—350.
223. YUNIS, E. J., SVARDAI, I. M. and BRIDGES, R. A. (1969) Genetics of the Bombay phenotype. *Blood*, **33**, 124—132.
224. ZELENSKI, K. R. and LAMBERT, R. M. (1979) The I, i and HI blood group antigens in extracts of human erythrocytes. *Immunol. Communications*, **8**, 505—509.
225. ZMIJEWSKI, CH. M. (1978) *Immunohematology. 3<sup>rd</sup> ed.* Appleton-Century-Crofts, New York, pp. 69—118.



# THE IMPORTANCE OF GENE INTERACTIONS IN THE BIOSYNTHESIS OF SOME HUMAN ERYTHROCYTE ALLOANTIGENE SYSTEMS

A study written for the 80th anniversary of the discovery of blood groups

Lili Fülöp-Aszódi

Blood Transfusion Centre, County Hospital and Outpatient Clinic of the Hajdú-Bihar County Council, Debrecen, Hungary

Since the discovery of blood groups notable advances have been made in the branch of immunogenetics dealing with erythrocyte alloantigens. Not only the number of detected alloantigens has been increasing, but also the chemical properties and genetically controlled biosynthesis of certain alloantigens have become known.

It has been proved that the antigens of the blood group AB0 and associated groups (Hh, Sese, Lewis) are not the primary products of their determining genes. Their antigenic determinants are monosaccharides which are carried on a common precursor glycoprotein or glycosphingolipid molecule. The various monosaccharide molecules, that constitute the "immunodominant" sugars in each determinant structure, are attached to the terminal part ( $\beta$  galactose (1-3) or (1-4)  $\beta$ N-acetylglucosamin) of the carbohydrate chains in the glycoprotein or glycosphingolipid molecules by the glycosyltransferase enzymes, specific products of each given blood group gene.

Various gene interactions play a role in the production of a given alloantigene of the Hh and AB0 systems. On the basis of interactions between *H*, *A* and *B* structural genes with each other or by their interactions with other modifying, inhibitor and suppressor genes, the formation respectively of normal or modified, weak, defective H, A and B phenotypes may be induced. H antigene is not produced if the rare, alternative amorph *h* allele takes the place of the *H* gene on the H locus and as a result — since H antigene is a precursor of the A and B antigenes — even though the *A* and (or) *B* gene is present in the genotype, a synthesis of the A and / or B antigenes can not occur. Consequently the *H* and *A* and/or *B* gene interactions assure the biosynthesis of A and B antigenes.

Even when the *H* gene is present further gene interactions will be necessary to control the expression of the H antigene. H antigene can be produced in the secretions whenever the *Se* gene is present in the genome and in the erythrocytes whenever the *Z* gene is present. These are regulator genes that "switch" the action of the *H* gene.

The *Le<sup>b</sup>* and *Le<sup>d</sup>* antigenes are also formed by gene interactions: the former is the interaction product of the *Le<sup>a</sup>* and *H (Se)* genes on the type 1. carbohydrate chain, the latter probably is that of the *Le<sup>c</sup>* and *H (Se)* genes on the type 2. chain.

The highly specific products of the blood group genes the glycosyltransferases participating in the sequential biosynthesis of the H, A, B and Lewis antigenes have already been isolated and purified out of erythrocytes, mucosal cells and blood plasma. Their presence or absence with other data could elucidate the biochemical background of the formation of particular phenotypes which were detected by serological reactions with unexpected results. Through all this an insight could be obtained into the intricate processes which lead from the presence of blood group genes to the production and expression of blood group antigenes.



## A NEMZEDÉKI VÁLTOZÁS ÉS A GYERMEKKORI FEJLŐDÉS KÉRDÉSEI AZ 1970-ES ÉVEKBEN VÉGZETT KERESZTMETSZETI VIZSGÁLAT ALAPJÁN

MÉSZÁROS JÁNOS, SZMODIS IVÁN\*, MOHÁCSI JÁNOS,  
FRENKL RÓBERT

Magyar Testnevelési Főiskola Orvostudományi Tanszéke  
és \*Központi Sportiskola Tudományos és Módszertani Csoportja, Budapest

Beérkezett: 1981. január 12-én

*Kulcsszavak:* antropometria, növekedés, szekuláris trend, alkattipológia, Conrad-indexek

### Bevezetés

A gyermekek és serdülők fejlődésével kapcsolatos törvényszerűségek megismerésében jelentős segítséget kaphatunk a növekedés és fejlődés következtében kialakuló látható jegyek, testméretek, a neuroendokrin rendszer megváltozott működését követően kialakuló változások stb. időbeni megjelenésének feltárásával. A testi változások életkorfüggésével kapcsolatosan nagyszámú közlemény áll rendelkezésünkre, de átfogó hazai mintáról sajnos elég ritkán számolnak be a vizsgálok [11, 53]. Az említett közlemények megjelenése óta hazánkban is közkeletű, mindennapos fogalomná vált az akceleráció (vagy a retardáció megszűnése), ami indokolttá teszi a populációs vizsgálatok felújítását és az eredmények gyakoribb közlését. Ez az egyedfejlődéssel kapcsolatos jelenség elsősorban azokra a csoportokra koncentrálódik, ahol fennáll a fejlődésben mutatkozó kisebb-nagyobb lemaradás lehetősége, tehát ahol a „pótlás” biológiai szükségletté vált. Az akceleráció következtében kialakuló morfológiai és funkcionális módosulások normál körülmények között mindig a fiziológias határokon belül maradnak [44], tehát ez is bizonyítja, hogy valóban a fejlődésben mutatkozó „lemaradások” pótlásáról van szó, nem pedig a növekedést szabályozó törvényszerűségek lényegi megváltozásáról. Az életkörülmények — testi és funkcionális szempontból kedvező irányú — változásai a szervezeti szabályozó rendszereken keresztül, mintegy felerősítve hatnak a fejlődés folyamatára. Valójában magasabb szinten, minőségileg más módon realizálódik a szervezet igénye és a környezet lehetőségei közötti kölcsönhatás [38].

KÁDÁR [28] beszámolt ugyan az akceleráció jelenségének időnkénti körülírt lassulásáról olyan esetekben, amikor a kedvezőtlen viszonyok a lakosság egy meghatározott csoportjában széles körben érvényesülnek, de az ilyen jellegű hatások a lakosság egészére vonatkozóan nem változtatják meg lényegesen a fiatalok fejlődésének gyorsult menetét.

Az emberi testnek, mint szerkezeti és funkcionális egységnek fejlődése nem egyenletes. A nem egyenletes fejlődés nemcsak a különböző jegyekben, testméretekben, testarányokban jut kifejezésre, hanem a belső szervek funkcionális állapotára jellemző mutatókban, azok nemenként és életkoronként változó szintjében is. BUCYI [7] pl. a csontfejlődés egyenlőtlenségét tapasztalta. A kéztőcsontok csontmagvainak megjelenésében előbbre járást mutatott ki,



mint a könyökizület alkotásában résztvevő csontok epifízis porcainak elcsontosodásában.

Egyes belső szervek mind szerkezetükben, mind pedig működéseikben a hossz- és súlygyarapodástól lényegesen eltérő, vagy attól viszonylagosan független fejlődést mutatnak, illetve mutathatnak. Például az endokrin szerveknél sincs párhuzamosság a testfejlődéssel, de ezen szervek működési optimumának kialakulásában is megfigyelhető időbeni változás [5, 29].

A szervrendszerek funkcionális gyarapodásának ingerei nem kis részben a külső környezetből származnak. A fejlődés és a növekedés menetét viszont endogén tényezők határozzák meg elsősorban. A külső környezet hatása azonban e „fixált” tendenciákra is igazolt. A táplálkozási tényezők, a szociális körülmények, a testmozgás hatása a fejlődés tempójára kétségtelen.

A funkciók kibontakozása a fejlődéssel és az érssel szoros kapcsolatban van. Ez a fejlődés nemcsak és nem elsősorban tömegnövekedést, sejtszaporulatot jelent, hanem az egyes szervek strukturális és kémiai átalakulását, működéseik módosulását, bővülését is. A strukturális és a kémiai átalakulás meghatározott fázisokban, de sok esetben a kronológiai életkortól függetlenül következik be. Mivel a struktúra és a funkció gyermek- és serdülőkorban különösen szoros kölcsönhatásban van egymással [34, 54], a testi fejlettség egyik lényeges elbírálási szempontja lehet a szervezet működési mutatóinak elemzése is.

Örvendetes, hogy az 1970-es évek elejétől egyre több olyan dolgozat látott napvilágot, amelyekben a szerzők a szerkezetet a funkcionális mutatókkal együtt vizsgálják [4, 22, 33, 40, 49].

A retardáció megszűnésével párhuzamosan — amely jelenség a növekedésben, fejlődésben levő nemzedékek sorában jól tanulmányozható — a növekedés végeredményeként kialakuló felnőttkori szerkezetben is tapasztalható bizonyos mértékű módosulás, elsősorban linearitás fokozódás. A fiatal felnőttkori testszerkezettel kapcsolatosan hazai [1, 23, 24, 27] és külföldi szerzők [26, 37, 39, 56] egyaránt leszögezik a változás tényét, sőt WOLANSKI [56] a szerkezeti változásokkal párhuzamosan a testi teljesítőképesség csökkenésének lehetőségéről is beszámol. A fiatalok testi fejlettségének változásait természetesen nem csupán biológiai, tipológiai vagy orvosi megfontolások alapján kell értékelni, hiszen az összefüggések mind a funkciót, mind pedig a gazdasági-társadalmi vetületet, illetőleg a személyiség fejlődését tekintve is rendkívül szerteágazóak [6, 10, 14, 17, 21, 30, 45, 47].

Ezeknek a szempontoknak az együttes bemutatására egyetlen dolgozat aligha vállalkozhat. Az idézett és más, a testszerkezetet tárgyaló munkák is jogossá teszik viszont, hogy alapos vizsgálat alá vegyük a körvonalazott jelenséget és az ezzel kapcsolatos véleményeket is, mert a testi fejlettségben tapasztalható módosulásokat az egyes szervrendszerek működésének változásai is követhetik; a keringési- és légzőrendszer működése mindennapi életünkkel áll kölcsönhatásban, a hivatásra való felkészülés az idegrendszeri integráltsággal, a gondolkodási mechanizmusok pedig szoros kapcsolatban vannak a szociális érettség szintjével, ami egyes adatok szerint nem eléggé tart lépést a sok országban (a korábbiakhoz képest) gyorsultnak tapasztalt biológiai fejlődés tempójával. Korunk ismeretében valóban szembe kell nézni egy olyan körfolyamat kialakulásának a lehetőségével, hogy az ember biológiájában ma szerepet játszó társadalmi tényezők csökkent teljesítőképességre hajlamosítanak, amit az érintettek „kímélő” életmóddal, az aktivitás, az emberi mozgásszféra lehetőségeinek további csökkentésével próbálnak ellensúlyozni. A mozgásingerek



számának és intenzitásának további korlátozása viszont a teljesítőképesség további csökkenését eredményezi. Lényegesnek és hangsúlyozandónak kell tekinteni, hogy az említett nemzedéki változások összetevői közül számos külső, környezeti tényező a társadalomnak ma rendelkezésre álló eszközökkel befolyásolható. E változások nem önmagukban jók vagy rosszak, belső arányaik maguk is változhatnak és különböző lehet.

A tanulmány szorosan vett témakörét illetően csak az lehet a helyes álláspont, ha az emberi teljesítőképesség növelését tekintjük célnak. Amennyiben igazolható az a vélemény, hogy a változások jelenlegi szakasza kedvezőtlen távlati következményekkel fenyeget, a szükséges ellenlépéseket az ismeretek alapján kell megtenni. Az urbanizációs ártalmak, a civilizáció és a technika adta lehetőségekkel való visszaélés következtében csökkent fizikai igénybevételt tudatosan és rendszeresen pótolni kell. Elsősorban az életpályára való felkészülés szakaszában, de minden más életkorban is, éspedig a kiesettekhez hasonló, sőt intenzitásában azt lehetőleg meghaladó és kedvező hatású tevékenységekkel, mozgásaktivitással. Ma már világosan látható, hogy a motoros aktivitás további csökkenése hátrányos és súlyos biológiai-társadalmi következményekkel jár. Hiba lenne tehát nemkívánatos túlterhelésnek felfogni a rendszeres, nagyintenzitású, rekreációs vagy sportjellegű fizikai tevékenységet, igénybevételt. Túlterhelés csak akkor mutatkozik, ha valaki erejét meghaladó feladatokra vállalkozik. Megfelelő rendszeresség esetén szinte nem is lehet túlterhelni senkit sem, ez ellen megvéd a természetes fáradtságérzés, a részlegesen terhelő monoton igénybevétel túlterhelő hatásaival szemben pedig az egyhangúság önmegszüntető reakciója.

Első lépésnek mindenképpen a tényleges helyzet megismerését tekintjük. Örvedetes és a probléma megoldásában első lépésként értékelhető, hogy mind több olyan közlemény lát napvilágot, amely a kívánatos aktivitási szintű csoportok vagy a magas szinten sportolók jellemzőivel hasonlítja össze a lakosság gyermekeiből vagy fiatal felnőttekből álló csoportjait [12, 18, 45]. Szerzőik arra is bizonyítékot szolgáltatnak, hogy a kedvezőtlen változások nem végzetszerűen következnek be, hanem a negatív jelenségek hatása és mértéke a testszerkezet és a funkciók vonatkozásában egyaránt csökkenthető, a kedvezőtlen tendenciák megállíthatók.

Ugyanakkor nem lehet elhallgatni, hogy még messze nem rendszeres és nem általános nálunk a lakosság különböző csoportjainak testi fejlettségére vonatkozó adatgyűjtés. Ha a század elején megindult hazai vizsgálatok száma a felszabadulás után gyorsabban nőtt is [15], elégedettek nem lehetünk még. Nem csupán a széleskörű vizsgálatok adta általánosítási lehetőség hiányzik; az átgondolt cselekvés lehetőségét az újabb keletű adatok szűk köre is akadályozza. Az 1950-es évektől kezdve közlésre került eredmények [9, 41, 42, 43, 53], sőt ma már az 1960—70 körüliek is [11, 27, 36], egyre korlátozottabb érvénnyel használhatók fel összehasonlítási alapként, mivel a nemzedéki és társadalmi változások a korábbiakhoz képest felgyorsultak. Napirenden kell tehát tartani a friss adatok [2, 3, 20, 50, 51] bővítésére vonatkozó igényt.

Jelen tanulmány céljai között ezért az is szerepel, hogy adjon lehetőséget a viszonyításra, természetesen megfelelően gondos kritikával. A Testnevelési Főiskolára jelentkezők száma szinte elhanyagolható a főiskolások és egyetemisták csoportján belül, akik maguk is csak egy szűk rétegét alkotják a fiatal felnőtt lakoságnak. Az egészséges átlagos populáció vizsgálatában egyre kevésbé nélkülözhető annak ismerete, hogy milyen mozgásaktivitású csoport-



tokról van szó. Nehéz kitérni az elől, hogy elismerjük: a főiskolások, egyetemisták rétegén belül is, részben a képzés profiljából adódóan, elkülöníthető a kisebb és nagyobb aktivitású fiatalok csoportja. A pedagógiai főiskolák testnevelés szakos és a Testnevelési Főiskola tanár szakos hallgatói — képzésük során is, de azt megelőzően is — a jelenleg átlagosnak nevezhető aktivitási szintet meghaladó — fizikai képzésben vesznek részt [21, 32]. Más egyetemek és főiskolák hallgatói között az ennél lényegesen kisebb aktivitású fiatalok vannak túlsúlyban [2, 12, 51], bár kezdetben minden felsőoktatási intézményben folyik testnevelés. Az utóbbiról nemcsak nem mondhatunk le a továbbiakban (ennek értelmét már az antik görög világ „akadémiáinak” és „gimnáziumainak” szerves egysége is bizonyíthatja), hanem presztizsét és szerepét növelni is szükséges. Semmiféle tudományos „korrektség” ürügyén nem helyes elzárkózni az olyan összehasonlításoktól, ahol az egyik vagy fő összehasonlítási tényező a fizikai aktivitás szintje. Mindezek a megfontolások azonban hathatós érvként szolgálhatnak ahhoz, hogy a testnevelői pályára igyekvőket sajátos és — a korábbiakban vázolt kép ismeretében — lényeges viszonyítási csoportként kezelhessük.

### A probléma felvetése

A rövid irodalmi áttekintés alapján felvetődik a kérdés, hogy a felnövekvő generációk fejlődésében bekövetkező változások nyomkövetésére milyen időszakonként szükséges az átfogó, általános következtetések levonását is lehetővé tevő adatfelvételek megismétlése. A környezet jelenleg kedvezőnek vagy kedvezőtlennek tekintett hatásaiban bekövetkező változások viszonylag lassúak, számos apró, egymásnak ellentmondó vagy egymást erősítő hatás van munkában. Az előrejelzés bizonytalan a későbbi következmények jellege és mértéke nehezen becsülhető meg. A kellő időben történő beavatkozáshoz, vagy azok megtervezéséhez a legfrissebb tények ismerete szükséges, de nem elégséges feltétel; a változások tempójának eddigiekben megismert mértéke ugyanakkor arra utal, hogy az öt—tíz évenként megismételt adatfelvétel lehet leginkább segítségünkre a tendenciák felismerésében. Az egyedfejlődés menetének, a fejlődés és érés folyamatában az időbeni viszonyoknak a megváltozása még önmagában nem jó vagy rossz. A végállapot, tehát a már kialakult és dinamikus egyensúlyban levő szerkezet és a szerkezettel társuló funkciók milyensége viszont már lehet jó vagy rossz, vagy helyesebben fogalmazva a változások várható további iránya lehet kedvező vagy kedvezőtlen. Jelen tanulmány e két gondolatmenetet együttesen elemzi. A vizsgált minta elemszáma, és elsősorban a gyerekeknél az adatfelvétel helyének korlátozottsága következtében célkitűzéseink megfogalmazásakor igyekeztünk a minta jellegét és esetleges korlátait is figyelembe venni.

Az 1970-es évek közepén felvett minta alapján

- a budapesti általános iskolásokat és serdülőket, valamint a budapesti és vidéki 18—19 éves fiatal, fizikailag aktív felnőtteket kívántuk meghatározott szempontok alapján alkatilag és alakilag jellemezni;
- ezen túlmenően választ kerestünk arra is, hogy melyek azok a fejlődési periódusok, amikor a vizsgált jellegek lökésszerűen növekednek;
- megvizsgáltuk, hogy a relatív méretek alakulása hogyan viszonyul a méretek abszolút értékeinek növekedéséhez;



- a fiatal felnőttek azonos korú, de különböző években vizsgált csoportjait (amelyeket a Testnevelési Főiskolára jelentkezők képviselnek, összehasonlítva vizsgáltuk, hogy felismerhető-e a nemzedéki változás hatása a test szerkezetében?

### A vizsgált személyek

Két, egymást részben átfedő megfigyelési időszakban 3257 6—16 éves gyermek és serdülő lány, valamint fiatal felnőtt nő, 3400 gyermek és serdülő fiú, valamint fiatal felnőtt férfi testalkati vizsgálatát végeztük el. A gyermekek mérései 1976 és 1978 között zajlottak le tavasszal, a fiatal felnőtteket 7 egymást követő év azonos időszakában 1972—1978 között vizsgáltuk. Megoszlásukat az I. táblázat tartalmazza.

#### I. táblázat

A vizsgált személyek kor és nem szerinti megoszlása

Table 1. Distribution of the subjects according to sex and age

Életkor $\pm 0,5$ év	LÁNYOK	FIÚK	EGYÜTT
6	108	101	209
7	312	228	540
8	276	268	544
9	269	312	581
10	314	388	702
11	311	316	627
12	246	277	523
13	212	278	490
14	201	241	442
15	176	195	371
16	103	107	210
18—19	729	689	1418
Összesen:	3257	3400	6657

A vizsgált gyermekek és serdülőkoriak Budapest különböző kerületeiben levő (I. Tárnok utcai, Kosciuszko utcai és Naphegy úti, III. Kerék utcai, VIII. Dugonics és Bacsó Béla utcai, XIII. Csata utcai, XIV. Keresztúri úti, Álmos vezér téri, XVIII. Kassa utcai, XIX. Hungária úti és Pannónia úti, XX. Mártírok úti és Nyír utcai) általános iskolák tanulói voltak. A fenti iskolákban az órarend szerinti testnevelés órák száma minden évfolyamban hetente három. Az iskolák egy részében a többi osztályokkal párhuzamosan többletórasszámmal dolgozó speciális testnevelési osztályok is működnek. A gyermekanyagban a testnevelési osztályok tanulóin mért értékeket a párhuzamos, nem testnevelési csoportok értékeivel együtt mutatjuk be. A dolgozatban szereplő gyermekanyag másik részének vizsgálatára a Központi Sportiskola és a Budapesti Honvéd Sportegyesület Sportiskolájának felvételi vizsgáin került sor. Ezek a sportiskolák edzőközpontok, ahol tervszerű, de a közművelődési iskoláktól szervezetileg független sportképzés folyik. A sportiskolákba való jelentkezés tényére a gyermekek esetében nem kellett külön figyelmet fordítani,



mivel a fiatal életkor következtében (a jelentkezők zöme 10—12 éves) az esetleges korábbi és rendszertelennek tekinthető sporttevékenység alkatot befolyásoló hatása még nem érvényesülhetett. A 15—16 évesek eredményei közül pedig csak azokat vettük figyelembe, akik megelőzőleg hosszabb ideig tartó sportegyesületi munkát nem folytattak. A gyermek- és serdülő anyag kiválasztásánál lényeges szempont volt az egészségi állapot. A mintában csak olyan gyerekek szerepelnek, akik a kötelező, órarend-szerinti testnevelés órákon részt vesznek és a méréseket megelőzően hosszabb betegségük nem volt. Jelen közleményben nem vettük figyelembe az iskolák mellett működő kisegítő iskolák vagy korrekciós osztályok tanulóinak eredményeit sem.

A dolgozatban szereplő fiatal felnőtteket a Testnevelési Főiskolára jelentkezők képviselik. A jelentkezőknek mintegy 40%-a budapesti lakos volt, vagy Budapesten végezte középiskolai tanulmányait. A Főiskolára való jelentkezés feltételei között is szerepel az egészségügyi alkalmasság, mint kritérium. Ezt a lakóhely szerinti illetékes munkaalkalmassági rendelőintézet javaslatán kívül negatív vér-, vizelet- és tüdőrontgen-leletekkel is igazolnia kell minden jelentkezőnek. Az egyetemi felvételi vizsga első napján minden jelölt részletes sportorvosi vizsgálaton is részt vesz. A felvételi vizsgát csak azok folytathatják, akik minden egészségügyi kritériumnak megfelelnek.

A jelentkezők nagyobb része közvetlenül a négy évfolyamos középiskola befejezése után jön a felvételi vizsgákra. A fiatal felnőtt csoport életkori homogenitását is biztosítani kívántuk, ezért csak a 17,75—19,50 év közötti jelentkezők adatait vettük figyelembe. (A decimális életkort a vizsgált személyek születési időpontjának és a vizsgálat napjának ismeretében számoltuk ki.)

### Módszerek

Az antropometriai adatok felvétele a gyermekek és serdülők esetében tornatermi vagy laboratóriumi körülmények között, a fiatal felnőttek esetében közvetlenül az orvosi vizsgálat után, laboratóriumi körülmények között, a délelőtti órákban 9 és 12 óra között történt. A vizsgált személyek minden esetben minimális alsóruhában, mezítláb vettek részt a vizsgálatokon.

A testméretek felvételénél elsősorban a Nemzetközi Biológiai Program [55] eljárási ajánlásait vettük figyelembe. A testméretek a felvétel sorrendjében a következők voltak:

- testsúly: személymérleg, 0,1 kg pontossággal;
- testmagasság: antropométerrel, 0,1 cm pontossággal;
- mellkasszélesség: antropométerrel, 0,1 cm pontossággal;
- mellkasmélység: antropométerrel, 0,1 cm pontossággal;
- vállszélesség: antropométerrel, 0,1 cm pontossággal;
- alkarkerület: acél mérőszalaggal, 0,1 cm pontossággal;
- kézkerület: acél mérőszalaggal, 0,1 cm pontossággal;
- könyökszélesség: HOLTAIN-féle tolómérővel, 0,1 cm pontossággal;
- térdszélesség: HOLTAIN-féle tolómérővel, 0,1 cm pontossággal.

A testméretek egy részét a CONRAD-féle alkat-meghatározási eljárással is feldolgoztuk [8, 46, 48, 52]. Az eljárás indexértékei logikájukban KRETSCHMER típusaira vezethetők vissza. CONRAD eredeti leírásában tiltakozik a „típusmeghatározás” ellen, szerinte az eljárás hat testméret alapján a növekedési tendenciát mutatja be, vagyis az alkatviszonyokat. A különböző alkatvariánsokat a



metrikus és plasztikus indexpárral jellemzi. Az indexértékek táblázat [8], nomogram [46], vagy pedig regressziós egyenlet [48] segítségével határozhatók meg. Számítási munkánkban a regressziós módszerre támaszkodtunk.

A *metrikus index (MIX)* a mellkas szélességét és mélységét egymáshoz és a testmagassághoz viszonyítja. Első közelítésben tehát a mellkas kerekdedségének relatív mérőszáma, amely azonban kidolgozása során az egész test piknomorf vagy leptomorf jellegére is jellemzőnek bizonyult [46]. Az indexérték pozitív értéktartományába a KRETSCHMER szerinti piknikus típussal rokon piknomorfok tartoznak, negatív értéktartományába a leptoszom-aszténias típussal rokon leptomorfok. Az átmeneti, úgynevezett metromorf jelleg az indexérték enyhén negatív értéktartományába esik. A személyeket vagy csoportokat kétdimenziós koordináta rendszerben ábrázolva (1. ábra) a metrikus index adja a növekedési típus linearitására vonatkozó függőleges skálázást. Tekintettel a szexuális dimorfizmusra, külön táblázat, nomogram, illetve egyenlet szolgál a nők és férfiak metrikus indexének a meghatározására.

$$\begin{aligned} \text{Metrikus index (nők)} &= 0,18[\text{MMG} - 0,26\text{TMM} + 0,93\text{MKS} - 14,63] \\ R &= 0,999 & s_e &= \pm 0,05 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Metrikus index (férfiak)} &= 0,16[\text{MMG} - 0,26\text{TMM} + 0,80\text{MKS} - 2,61] \\ R &= 0,999 & s_e &= \pm 0,05 \end{aligned}$$

Mindkét egyenletben: MMG = mellkasmélység, TMM = testmagasság, MKS = mellkasszélesség cm-ben; R = a többszörös korrelációs együttható, amely a felhasznált regressziós együttható és az eredeti nomografikus értékek egyezését mutatja;  $s_e$  = a regressziós egyenes körüli szóródás mértéke.

A *plasztikus index (PLX)* a csontozatra és az izomzatra jellemző három mérőszám aritmetikai összege:

$$\text{PLX} = \text{VAS} + \text{AKK} + \text{KZK}$$

ahol VAS = vállszélesség, AKK = alkarkerület, KZK = kézkerület centiméterekben kifejezve.

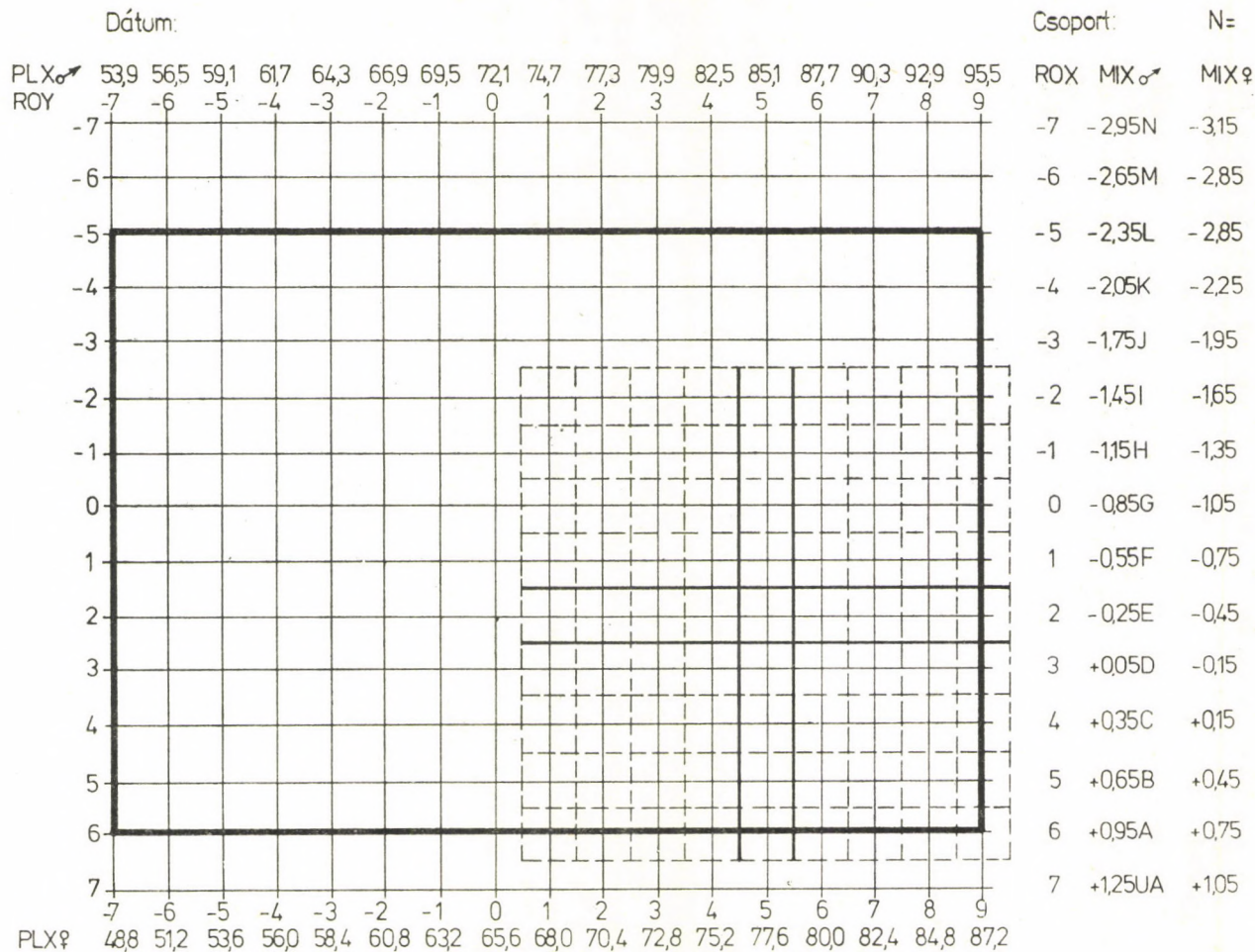
A plasztikus index értékei a koordináta rendszerben a növekedési típus fejlettségi helyzetét jellemző, vízszintes skálázást adja. A csont- és izomrendszeri fejlettség mérőszáma balról jobbfelé haladva nő, tulajdonképpen abszolút léptékben. A koordináta rendszer (1. ábra) középső, függőleges tengelye körül elhelyezkedők megjelölése metroplasztikus, ettől a tengelytől balra helyezkednek el az ilyen szempontból gyengén fejlettek, és ettől a tengelytől jobbra az ilyen szempontból erőteljesen fejlettek, a hiperplasztikusok. A plasztikus index a szexuális dimorfizmust ugyancsak külön női és férfi skálázással veszi figyelembe. A mindkét jellemző szempontjából középhelyzetben levő típus a *metromorf-metroplasztikus*. Az ehhez a zónához tartozó indexérték határok:

$$\begin{aligned} \text{Nők:} & \text{ MIX} = (-0,15), (-0,75); & \text{ PLX} &= 75,2-80,00 \\ \text{Ffi:} & \text{ MIX} = (+0,05), (-0,55); & \text{ PLX} &= 82,5-87,70 \end{aligned}$$

A közepes helyzettől eltérő, szélsőséges típusok elméleti lehetőségei felötteknél a következők:

1. *hipoplasztikus-leptomorf*: nyúlánk, lineáris típusú és ehhez gracilis vékony csontok és fejletlen aktív mozgatórendszer társul. Indexérték határok:





1. ábra. A módosított CONRAD alkatháló.

A további ábrákon csak a vastagon keretezett terület szerepel

Fig. 1. The modified growth type chart of CONRAD. The dashed square designates the original plot of CONRAD (see text for details). In the subsequent figures only the area enclosed by the heavy line is referred to.

MIX: metric index; PLX: plastic index



$$\begin{array}{ll} \text{Nők:} & \text{MIX} = (-1,95), (-0,75); & \text{PLX} = 65,6-75,2 \\ \text{Ffi:} & \text{MIX} = (-1,75), (-0,55); & \text{PLX} = 72,1-82,5 \end{array}$$

2. *hipoplasztikus-piknomorf*: köpcös, de a mozgatórendszer fejletlen. Indexérték határok:

$$\begin{array}{ll} \text{Nők:} & \text{MIX} = (+1,05), (-0,15); & \text{PLX} = 65,6-75,2 \\ \text{Ffi:} & \text{MIX} = (+1,25), (-0,05); & \text{PLX} = 72,1-82,5 \end{array}$$

3. *hiperplasztikus-leptomorf*: nyúlánk, a testmagassághoz viszonyítottan is fejlett, erős csont-izomrendszerrel. Indexérték határok:

$$\begin{array}{ll} \text{Nők:} & \text{MIX} = (-1,96), (-0,75); & \text{PLX} = 80,0-88,4 \\ \text{Ffi:} & \text{MIX} = (-1,75), (-0,55); & \text{PLX} = 87,7-96,8 \end{array}$$

4. *hiperplasztikus piknomorf*: zömök, fejlett, erős csont-izomrendszerrel. Indexérték határok:

$$\begin{array}{ll} \text{Nők:} & \text{MIX} = (+1,05), (-0,15); & \text{PLX} = 80,0-88,4 \\ \text{Ffi:} & \text{MIX} = (+1,25), (-0,05); & \text{PLX} = 87,7-96,8 \end{array}$$

A négy, elméletileg lehetséges szélsőség közül a 2-es és 4-es számmal jelzettek előfordulásának valószínűsége kicsi. Vizsgálataink során felnőtt anyagban a másodikkal nem találkoztunk a megfigyelt hét év folyamán, a 4-es számmal jelzett pedig csak ezrelékben kifejezhető számban fordult elő.

CONRAD a növekedési típusokat úgy jellemezte, hogy a metrikus index intervallumokhoz betűjelet rendelt A-tól H-ig, a plasztikus index intervallumaihoz pedig számokat 1-től 9-ig. Ez a mód csak a gyakoriságra vonatkozó statisztikai elemzést enged meg. Mivel kérdéseink a csoportok jellemzőinek nem gyakorisági, hanem közvetlen összehasonlítását kívánták, minden esetben az indexértékek átalakítás nélküli, közvetlen számértékét használtuk fel.

A CONRAD által eredetileg alkalmazott koordináta-rendszer (alkatháló: *1. ábra*) vízszintes tengelye, amelyen a plasztikus index értékei adják a skálázást, csak a felnőttek, vagy a felnőtt korhoz közeli életkorú személyek plasztikus indexének ábrázolását teszi lehetővé. A gyermekek és serdülők plasztikus indexértékei az indexet alkotó három testméret kisebb abszolút értéke miatt, az alkathálón kívülre esnek. Ezért szükségessé vált az alkatháló koordináta tengelyeinek a kiterjesztése, olyan mértékben, hogy a gyerekek értékei is ábrázolhatók legyenek [48]. Ezáltal lehetővé vált a fejlődés és növekedés folyamatának az ábrázolása is. (Az *1. ábrán* vastag vonallal keretezett területen helyezkednek el az általunk mért értékek.)

### Matematikai statisztikai módszerek

Az alapadatokból átlagot ( $\bar{x}$ ) és szórást ( $s$ ) számoltunk. Az évek közötti különbségek valódiságát a testméretek és az indexek esetében is variancia-analízis után F-próbával elemeztük. Ha a csoportok közötti eltérés F-próbája 5%-os véletlen hiba szinten szignifikánsnak bizonyult, a csoportok közti valós



különbségek minimális nagyságát kritikus differenciákkal jellemeztük SCHEFFÉ szerint, az eljárás szigorúsága miatt 10%-os véletlen hiba szinten [25].

A variancia-analízisek eredményeit bemutató táblázatokon a maradék varianciát (VAR), a csoportok közti variancia F-próbájának értékét (F) és a kritikus differenciát (KD) is feltüntettük. Az összehasonlításra került évjáratok átlagokat a felnőtteknél nagyság szerinti sorrendbe rendezve, folyamatos aláhúzás köti össze azokat az értékeket, amelyek *nem* bizonyultak különbözőnek. Az eredeti sorrendben felvett átlagértékek nagyságának esetleges időfüggését ortogonális kontrasztokkal és regresszióanalízissel elemeztük. A testméretek abszolút értékeiből a testmagassághoz viszonyított, relatív mérőszámokat is képeztünk:

$$\text{relatív méret} = \frac{\text{testméret}}{0,01 \times \text{testmagasság}}$$

annak érdekében, hogy a testmagasság különbözőségeitől megszabadulva a valódi arányokról is képet kapjunk. Relatív mérőszámok más testméretek alapján is képezhetők, ilyen mélységű elemzést azonban kérdéseink nem kívántak.

## Eredmények

Az anyag feldolgozásával kapott, jellemző adatokat táblázatokba foglalva mutatjuk be. A terjedelmi korlátok miatt a CONRAD-féle növekedési típust jellemző indexértékek előállításánál során alapadatként felhasznált dimenziókat külön nem mutatjuk be.

### II. táblázat

*A testmagasság változása (lányok)*

Table 2. Increase of stature (girls)

Életkor	$\bar{x}$	s	MIN	MAX	P <sub>delta</sub>	%
6	118,93	3,20	109,0	130,0		72,97
7	121,50	5,03	111,0	132,0	+	74,75
8	127,07	5,26	114,0	139,0	+	77,97
9	132,47	6,20	121,0	152,0	+	81,20
10	139,45	5,80	120,0	158,0	+	85,56
11	144,17	6,28	130,0	156,0	+	88,46
12	151,15	6,48	137,0	164,0	+	92,74
13	156,09	6,06	138,0	173,0	+	95,77
14	159,04	6,50	140,0	173,0	+	97,58
15	160,83	5,58	145,0	173,0	+	98,68
16	162,08	5,31	151,0	172,0	Ø	99,45
18-19	162,98	8,13	150,0	183,0	Ø	100,00

Jelzések és rövidítések a táblázatokban:

*Abszolút*: a mért dimenziókban (cm, kg) kifejezett értékek.

*Relatív*: a testmagasság százalékában kifejezett értékek.

$\bar{x}$ : átlag; s: szórás; *MIN*: az előfordult legalacsonyabb érték; *MAX*: az előfordult legmagasabb érték.

*P<sub>delta</sub>*: az egymást követő évjáratok különbségének szignifikanciája, ahol + jelenti az 5% szinten számolt t-próba szignifikáns, Ø pedig a nem szignifikáns eredményét.

%: a fiatal felnőttek adatához viszonyított százalékos fejlettség.



1. A 6—16 éves lányok és fiúk

A testmagasság (II. és III. táblázat) mérőszámának növekedése a lányoknál 6—15 éves kor között kifejezett. Az évenkénti különbségek statisztikailag szignifikánsak. A változás sebessége 11—12 éves kor között a legnagyobb, majd fokozatosan csökken. 15—16 és 16—19 éves kor között az évi növekmény már nem szignifikáns.

III. táblázat  
A testmagasság változása (fiúk)  
Table 3. Increase of stature (boys)

Életkor	$\bar{x}$	s	MIN	MAX	Pdelta	%
6	119,32	3,42	99,5	125,0		68,11
7	123,39	4,49	111,0	139,0	+	70,44
8	128,46	5,46	117,0	138,0	+	73,33
9	133,67	5,72	122,0	147,5	+	76,30
10	139,94	5,57	128,0	155,0	+	79,88
11	144,45	6,81	128,0	160,0	+	82,46
12	150,00	6,43	132,0	171,0	+	85,63
13	157,06	6,78	143,0	174,0	+	89,66
14	163,08	6,14	141,0	179,0	+	93,09
15	169,18	6,37	149,0	190,0	+	96,57
16	173,16	7,68	152,0	187,0	+	98,85
18—19	175,18	6,60	157,0	201,0	+	100,00

A fiúk testmagasságának növekedését is a lányokéhoz hasonló tendencia jellemzi. A legkifejezettebb a növekedés 12—13 éves kor között. A továbbiakban az évenkénti változás csökken ugyan, de a növekedési lökést követően is minden évben szignifikáns.

A testsúly (IV. és V. táblázat) változását a lányoknál szinte szabályos lépcsőzetes növekedés jellemzi 11 éves korig. Ezt követően jelentős növekedési lökés tapasztalható. A növekedési lökést követően az évenkénti súlygyarapodás

IV. táblázat  
A testsúly változása (lányok)  
Table 4. Increase of weight (girls)

Életkor	Abszolút					Relatív		
	$\bar{x}$	s	MIN	MAX	%	Pdelta	$\bar{x}$	s
6	21,15	2,13	15	33	37,20		17,78	1,79
7	23,60	3,70	17	34	41,50	+	19,42	3,05
8	26,20	4,40	18	39	46,07	+	20,62	3,06
9	29,07	5,78	22	49	51,12	+	21,94	3,86
10	32,28	5,71	23	51	56,76	+	23,15	3,09
11	35,74	6,51	24	51	62,85	+	24,72	4,52
12	40,75	7,31	30	62	71,65	+	26,95	4,48
13	45,40	6,88	30	60	79,83	+	29,09	4,41
14	49,79	9,03	33	67	87,55	+	31,31	5,68
15	54,15	6,20	39	70	95,22	+	33,67	3,86
16	56,85	5,83	42	71	99,98	+	35,08	3,60
18—19	56,86	7,83	41	81	100,00	∅	34,89	4,80



V. táblázat  
A testsúly változása (fiúk)  
Table 5. Increase of weight (boys)

Életkor	Abszolút					Relatív		
	$\bar{x}$	s	MIN	MAX	%	P <sub>delta</sub>	$\bar{x}$	s
6	21,24	2,02	14	29	30,75		17,80	1,69
7	23,99	2,73	16	35	34,73	+	19,41	2,21
8	26,88	4,24	18	48	38,92	+	20,92	3,30
9	29,14	4,80	21	39	42,19	+	21,80	3,59
10	32,47	4,26	25	48	47,01	+	23,20	3,04
11	36,45	6,30	22	55	52,77	+	25,23	4,36
12	41,15	7,02	28	61	59,58	+	27,43	3,86
13	44,83	7,92	30	63	64,91	+	28,54	4,08
14	51,44	7,44	37	70	74,78	+	31,54	3,56
15	57,70	5,12	39	78	83,54	+	34,11	3,03
16	63,74	6,75	43	87	92,28	+	36,81	3,90
18—19	69,07	7,91	55	102	100,00	+	39,43	4,52

csökken, de 15 éves korig az évi növekmény még mindig nagyobb, mint a növekedési lökést megelőző életkorokban. A testsúly relatív értékei is — hasonlóan az abszolút értékekhez — évről-évre nagyobbak. A relatív testsúly növekedése 11—15 éves kor között szintén kifejezett.

A fiúk testsúlyának növekedése is lépcsőzetes tendenciájú, bár nem egyenletesen, mivel 8—9 éves kor között a legkisebb az évi növekedés. Lökésszerű növekedés 13—14 éves kor között látható. Ezt követően az évi súlynövekedés évről-évre kisebb, de a lányokéhoz hasonlóan lényegesen nagyobb, mint a lökést megelőző bármelyik életkorban. A testsúly relatív értékeinek változásában is az abszolút értékeknél leírt tendencia ismerhető fel.

A metrikus index (VI. táblázat) a lányoknál 6—10 éves kor között mutatja a legkifejezettebb leptomorfiás eltolódást. Ezután 15 éves korig egyre pozitívabb és 15 éves korban már megegyezik a fiatal felnőtteket jellemző értékek-

VI. táblázat  
A metrikus index változása  
Table 6. Changes in metric index

Életkor	Lányok					Fiúk				
	$\bar{x}$	s	MIN	MAX	P <sub>delta</sub>	$\bar{x}$	s	MIN	MAX	P <sub>delta</sub>
6	-1,54	0,29	-1,87	-0,79		-0,91	0,30	-1,45	-0,40	Ø
7	-1,56	0,23	-1,98	-0,53	Ø	-0,88	0,24	-1,39	-0,44	+
8	-1,55	0,25	-1,90	-0,70	Ø	-0,97	0,28	-1,42	-0,42	Ø
9	-1,52	0,32	-2,10	-0,62	Ø	-1,00	0,24	-1,54	-0,48	+
10	-1,56	0,36	-2,06	-0,42	Ø	-1,15	0,32	-1,58	-0,32	Ø
11	-1,41	0,32	-2,11	-0,50	+	-1,13	0,30	-1,67	-0,41	Ø
12	-1,44	0,42	-2,24	-0,33	Ø	-1,13	0,29	-2,09	-0,31	+
13	-1,35	0,43	-2,02	-0,39	+	-1,20	0,35	-1,91	-0,44	+
14	-1,19	0,44	-1,89	-0,27	+	-1,25	0,35	-1,98	-0,36	+
15	-1,06	0,36	-1,84	-0,10	+	-1,15	0,32	-2,07	-0,28	Ø
16	-1,04	0,31	-1,87	-0,52	Ø	-1,11	0,31	-1,76	-0,41	+
18—19	-1,06	0,40	-1,94	-0,33	Ø	-0,86	0,37	-1,98	-0,05	

kel. Az index értékének a változása 10—11 és 12—15 éves kor között szignifikáns.

A fiúk metrikus indexe kisiskolás korban hasonló a fiatal felnőttekéhez. A leptomorfiás tulajdonságok fokozódása ezt követően 14 éves korig tart, majd a tendencia megfordul és ettől kezdve egyre pozitívabb lesz.

A *plasztikus index* (VII. és VIII. táblázat) növekedése a lányoknál minden évben lényeges. Kifejezett növekedési lökésnek nevezhető változás nem tapasztalható. Tizenhárom éves kor után a növekedés mértéke kisebb, mint az előző életkorokban. A relatív plasztikus index mérőszáma 12 éves korig csökken, 12 éves kortól kezdve nő.

VII. táblázat.

A plasztikus index változása (lányok)

Table 7. Increase of plastic index (girls)

Életkor	Abszolút					Relatív		
	$\bar{x}$	s	MIN	MAX	%	Pdelta	$\bar{x}$	s
6	56,98	1,83	52,1	60,8	73,62		47,91	1,54
7	58,05	2,90	52,4	66,3	75,00	+	47,78	2,39
8	60,13	2,90	53,0	68,8	77,69	+	47,32	2,28
9	61,88	3,41	55,1	74,0	79,95	+	46,71	2,57
10	64,42	3,24	56,6	74,9	82,23	+	46,20	2,32
11	67,27	3,53	60,0	74,7	86,91	+	46,66	2,45
12	69,19	2,90	61,4	77,4	89,39	+	45,70	1,92
13	72,18	3,31	62,8	80,2	93,26	+	46,24	2,12
14	73,82	3,70	64,9	86,2	95,37	+	46,42	2,33
15	75,53	2,76	67,8	85,3	97,58	+	46,96	1,70
16	76,32	2,43	68,9	86,8	98,60	+	47,09	1,52
18—19	77,40	4,27	69,5	88,9	100,00	+	47,49	2,62

A fiúk plasztikus indexének növekedése is minden évben jelentős. Növekedési lökés a fiúknál sem tapasztalható, de 12 éves kortól kezdve az évenkénti növekedés mennyisége több, mint az azt megelőző életkorokban. A relatív plasztikus index a fiúknál 13 éves korig csökken, majd ettől kezdve nő.

VIII. táblázat.

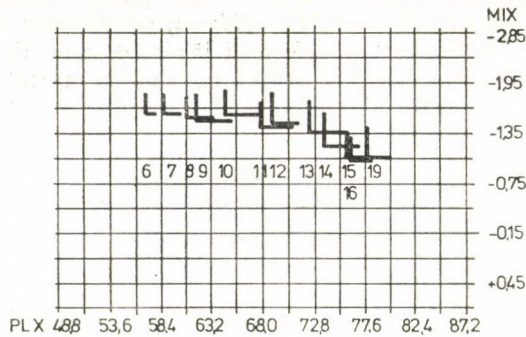
A plasztikus index változása (fiúk)

Table 8. Increase of plastic index (boys)

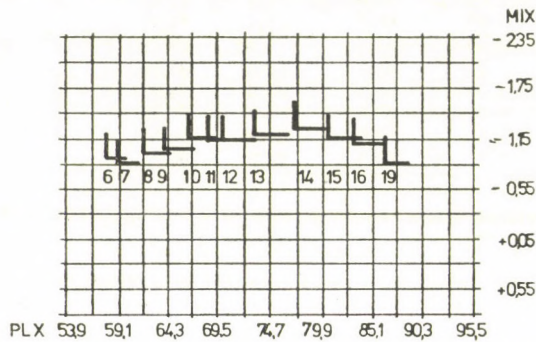
Életkor	Abszolút					Relatív		
	$\bar{x}$	s	MIN	MAX	%	Pdelta	$\bar{x}$	s
6	57,90	1,94	47,0	61,2	66,94		48,52	1,63
7	59,14	2,46	51,9	64,0	68,38	+	47,93	1,99
8	61,56	3,00	54,5	69,3	71,18	+	47,92	2,34
9	63,80	3,19	36,1	73,3	73,77	+	47,73	2,39
10	66,18	3,32	60,2	73,6	76,52	+	47,29	2,37
11	68,39	3,69	60,8	75,3	79,07	+	47,35	2,55
12	70,69	3,75	61,5	77,7	81,73	+	47,13	2,50
13	73,87	3,21	62,1	83,9	85,41	+	47,03	2,04
14	77,09	3,65	65,9	86,0	89,13	+	47,27	2,24
15	80,37	3,68	71,1	93,8	93,04	+	47,56	2,18
16	83,45	3,36	72,8	90,7	96,49	+	48,19	1,94
18—19	86,49	2,50	75,9	102,8	100,00	+	49,37	1,43



A 6—19 éves lányok és fiúk növekedésében tapasztalható változásokat a metrikus és plasztikus index értékeivel együttesen jellemezve a 2. és 3. ábrán mutatjuk be.



2. ábra. A 6—16 éves lányok növekedési típusának változása  
 Fig. 2. Changes in the growth type of girls between 6 and 16 years of age



3. ábra. A 6—16 éves fiúk növekedési típusának változása  
 Fig. 3. Changes in the growth type of boys between 6 and 16 years of age

A *könyökszélesség* (IX. és X. táblázat) növekedése a lányoknál 15 éves kor után lelassul. Növekedési lökés 10—11 éves korban figyelhető meg. A relatív könyökszélesség a lányoknál 8 éves korban a legnagyobb és 14 éves korban a legkisebb.

A fiúk *könyökszélességének* növekedése a 7 éves kortól kezdve minden évben szignifikáns. Lökésszerű növekedés a 9—12 éveseknél látható és ezt követően az évenkénti változás mérsékeltebb, mint korábban. A relatív könyökszélesség kisgyermek korban a legnagyobb és 16 éves korban a legkisebb.

A *térdszélesség* (XI. és XII. táblázat) növekedése a lányoknál 14 éves korig jelentős. Kifejezett növekedési lökés nem tapasztalható és 12 éves kor után az évenkénti változás csökken. A lányok relatív térdszélessége 6 éves kortól a fiatal felnőtt korig évről-évre csökken.

IX. táblázat. A könyökszélesség változása (lányok)

Table 9. Increase of elbow width (girls)

Életkor	Abszolút					Relatív		
	$\bar{x}$	s	MIN	MAX	%	P <sub>delta</sub>	$\bar{x}$	s
6	4,61	0,28	3,7	5,4	75,33		3,88	0,24
7	4,83	0,32	3,9	5,8	78,92	+	3,98	0,26
8	5,09	0,44	3,9	6,3	83,17	+	4,01	0,35
9	5,22	0,31	4,0	6,4	85,29	+	3,94	0,23
10	5,34	0,41	4,1	6,4	87,25	+	3,83	0,29
11	5,60	0,47	4,0	6,7	91,50	+	3,88	0,33
12	5,76	0,38	4,3	6,8	94,12	+	3,81	0,25
13	5,82	0,38	4,8	6,9	95,10	∅	3,73	0,24
14	5,91	0,36	4,8	6,9	96,57	+	3,72	0,23
15	6,00	0,35	5,1	7,2	98,04	+	3,73	0,21
16	6,07	0,35	5,2	7,4	99,18	∅	3,75	0,22
18-19	6,12	0,37	5,2	7,6	100,00	∅	3,76	0,23

X. táblázat. A könyökszélesség változása (fiúk)

Table 10. Increase of elbow width (boys)

Életkor	Abszolút					Relatív		
	$\bar{x}$	s	MIN	MAX	%	P <sub>delta</sub>	$\bar{x}$	s
6	5,05	0,21	4,5	5,7	70,73		4,23	0,18
7	5,10	0,24	4,4	5,8	71,43	∅	4,13	0,19
8	5,24	0,27	4,5	6,0	73,39	+	4,08	0,21
9	5,35	0,34	4,4	6,1	74,93	+	4,00	0,25
10	5,63	0,38	4,7	6,4	78,85	+	4,02	0,27
11	6,00	0,33	5,1	7,1	84,03	+	4,15	0,23
12	6,30	0,40	5,0	7,3	88,24	+	4,20	0,27
13	6,47	0,35	5,3	7,6	90,62	+	4,12	0,22
14	6,64	0,30	5,5	7,8	93,00	+	4,07	0,18
15	6,79	0,32	5,7	7,8	95,10	+	4,01	0,19
16	6,89	0,31	5,8	7,9	96,50	+	3,98	0,18
18-19	7,14	0,42	5,7	8,8	100,00	+	4,08	0,24

XI. táblázat. A térdszélesség változása (lányok)

Table 11. Increase of knee width (girls)

Életkor	Abszolút					Relatív		
	$\bar{x}$	s	MIN	MAX	%	P <sub>delta</sub>	$\bar{x}$	s
6	7,23	0,51	5,7	8,6	79,54		6,08	0,43
7	7,42	0,51	5,7	8,8	81,63	+	6,11	0,42
8	7,66	0,51	5,9	9,1	84,27	+	6,03	0,40
9	7,89	0,50	6,3	9,4	86,80	+	5,96	0,38
10	8,13	0,76	5,9	9,9	89,44	+	5,83	0,54
11	8,42	0,60	6,0	10,1	92,63	+	5,84	0,42
12	8,74	0,51	6,3	10,5	96,15	+	5,78	0,34
13	8,83	0,60	6,9	10,8	97,14	+	5,66	0,38
14	8,97	0,63	6,9	11,2	98,68	+	5,64	0,40
15	9,05	0,68	7,0	11,1	99,56	∅	5,63	0,42
16	9,08	0,57	7,1	11,5	99,89	∅	5,60	0,35
18-19	9,09	0,54	7,2	11,8	100,00	∅	5,58	0,33



XII. táblázat  
A térdszélesség változása (fiúk)  
Table 12. Increase of knee width (boys)

Életkor	Abszolút					Relatív		
	$\bar{x}$	s	MIN	MAX	%	Pdelta	$\bar{x}$	s
6	7,51	0,44	6,0	8,3	74,80		6,29	0,37
7	7,76	0,39	6,2	8,5	77,29	+	6,29	0,32
8	8,00	0,59	6,4	9,6	79,86	+	6,23	0,46
9	8,15	0,75	6,2	10,3	81,18	+	6,10	0,56
10	8,44	0,58	6,8	10,5	84,06	+	6,03	0,41
11	8,84	0,56	6,9	11,2	88,05	+	6,12	0,39
12	9,03	0,56	7,2	11,1	89,94	+	6,02	0,37
13	9,35	0,49	7,5	11,1	93,13	+	5,95	0,31
14	9,66	0,56	7,9	11,3	96,26	+	5,92	0,34
15	9,80	0,59	8,1	11,6	97,61	+	5,79	0,35
16	9,91	0,53	8,2	11,8	98,71	∅	5,72	0,31
18—19	10,04	0,42	8,9	12,6	100,00	+	5,73	0,24

A fiúk térdszélességének növekedése csak 15 éves kor után lassul le. Intenzív növekedés a 9—11 és 12—14 éves kor között látható. A relatív térdszélessége a fiúknál is 6 éves korban a legnagyobb és a kor előrehaladtával csökken, de a csökkenés nem egyenletes.

### 2. A fiatal (18—19 éves) felnőttek

A Testnevelési Főiskolára 1972—1978 között jelentkezett nők és férfiak vizsgálatával kapott eredményeket a XIII—XXI. táblázatban foglaltuk össze.

XIII. táblázat  
Az 1972-ben jelentkezett nők és férfiak testméreteinek és indexeinek átlagértékei és szórásai

Table 13. Means and S.D.'s of body dimensions and indices  
in females and males applying for admission in 1972

	NŐK (N = 124)			
	Abszolút		Relatív	
	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s
Testmagasság	162,27	5,69	—	—
Testsúly	56,19	3,37	34,63	3,30
Metrikus index	—1,11	0,28	—	—
Plasztikus index	78,52	3,08	48,39	1,88
Könyökszélesség	6,06	0,40	3,73	0,25
Térdszélesség	9,19	0,61	5,66	0,38
	FÉRFIAK (N = 101)			
Testmagasság	174,77	6,89	—	—
Testsúly	68,82	7,92	39,38	4,50
Metrikus index	—0,95	0,34	—	—
Plasztikus index	86,55	2,86	49,50	1,64
Könyökszélesség	7,02	0,37	4,01	0,22
Térdszélesség	7,97	0,58	5,69	0,31

XIV. táblázat

Az 1973-ban jelentkezett nők és férfiak testméreteinek és indexeinek  
átlagértékei és szórásai

Table 14. Means and S.D.'s of body dimensions and indices  
in females and males applying for admission in 1973

	NŐK (N = 132)			
	Abszolút		Relatív	
	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s
Testmagasság	162,85	4,81	—	—
Testsúly	56,32	4,97	34,58	3,05
Metrikus index	-1,16	0,32	—	—
Plasztikus index	77,85	2,79	47,80	1,71
Könyökszélesség	6,18	0,35	3,79	0,21
Térdszélesség	9,06	0,58	5,56	0,35

	FÉRFIAK (N = 101)			
	Abszolút		Relatív	
	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s
Testmagasság	174,57	6,54	—	—
Testsúly	69,17	7,11	39,62	4,06
Metrikus index	-0,98	0,31	—	—
Plasztikus index	86,70	2,98	49,66	1,70
Könyökszélesség	7,16	0,31	4,10	0,19
Térdszélesség	9,99	0,56	5,72	0,32

XV. táblázat

Az 1974-ben jelentkezett nők és férfiak testméreteinek és indexeinek  
átlagértékei és szórásai

Table 15. Means and S.D.'s of body dimensions and indices  
in females and males applying for admission in 1974

	NŐK (N = 112)			
	Abszolút		Relatív	
	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s
Testmagasság	162,66	5,41	—	—
Testsúly	55,56	5,64	34,21	3,40
Metrikus index	-1,14	0,31	—	—
Plasztikus index	78,01	2,99	47,96	1,83
Könyökszélesség	6,11	0,30	3,76	0,18
Térdszélesség	9,24	0,53	5,68	0,33

	FÉRFIAK (N = 127)			
	Abszolút		Relatív	
	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s
Testmagasság	175,05	6,29	—	—
Testsúly	69,33	7,44	39,31	4,25
Metrikus index	-0,84	0,28	—	—
Plasztikus index	86,80	3,14	49,59	1,78
Könyökszélesség	7,06	0,25	4,03	0,15
Térdszélesség	10,12	0,56	5,78	0,32



XVI. táblázat

Az 1975-ben jelentkezett nők és férfiak testméreteinek és indexeinek átlagértékei és szórásai

Table 16. Means and S.D.'s of body dimensions and indices in females and males applying for admission in 1975

	NŐK (N = 123)			
	Abszolút		Relatív	
	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s
Testmagasság	163,44	5,19	—	—
Testsúly	55,97	6,00	34,24	3,67
Metrikus index	-1,08	0,27	—	—
Plasztikus index	77,93	2,77	47,69	1,69
Könyökszélesség	6,20	0,30	3,79	0,17
Térdszélesség	9,23	0,51	5,65	0,31

	FÉRFIAK (N = 141)			
	Abszolút		Relatív	
	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s
Testmagasság	175,94	7,02	—	—
Testsúly	69,41	6,99	39,44	3,79
Metrikus index	-0,80	0,30	—	—
Plasztikus index	87,71	3,05	49,85	1,72
Könyökszélesség	7,36	0,40	4,18	0,23
Térdszélesség	10,09	0,57	5,73	0,32

XVII. táblázat

Az 1976-ban jelentkezett nők és férfiak testméreteinek és indexeinek átlagértékei és szórásai

Table 17. Means and S.D.'s of body dimensions and indices in females and males applying for admission in 1976

	NŐK (N = 120)			
	Abszolút		Relatív	
	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s
Testmagasság	163,64	5,76	—	—
Testsúly	57,02	5,27	34,43	3,22
Metrikus index	-1,09	0,31	—	—
Plasztikus index	77,86	3,01	47,58	1,83
Könyökszélesség	6,28	0,36	3,84	0,36
Térdszélesség	9,39	0,50	5,74	0,31

	FÉRFIAK (N = 112)			
	Abszolút		Relatív	
	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s
Testmagasság	175,26	6,80	—	—
Testsúly	69,76	7,11	39,80	4,05
Metrikus index	-0,85	0,29	—	—
Plasztikus index	86,70	3,10	49,47	1,76
Könyökszélesség	7,25	0,37	4,13	0,20
Térdszélesség	9,93	0,46	5,66	0,26

XVIII. táblázat

Az 1977-ben jelentkezett nők és férfiak testméreteinek és indexeinek átlagértékei és szórásai

Table 18. Means and S.D.'s of body dimensions and indices in females and males applying for admission in 1977

	NŐK (N = 118)			
	Abszolút		Relatív	
	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s
Testmagasság	164,41	5,11	—	—
Testsúly	57,66	6,04	35,07	4,04
Metrikus index	-1,20	0,33	—	—
Plasztikus index	78,72	3,10	47,88	1,89
Könyökszélesség	5,99	0,29	3,64	0,20
Térdszélesség	9,47	0,44	5,92	0,27

	FÉRFIAK (N = 106)			
	Abszolút		Relatív	
	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s
Testmagasság	175,21	5,93	—	—
Testsúly	69,55	5,95	39,70	3,39
Metrikus index	-0,80	0,32	—	—
Plasztikus index	88,17	3,05	50,32	1,74
Könyökszélesség	7,14	0,48	4,08	0,27
Térdszélesség	3,57	0,53	5,46	0,32

XIX. táblázat

Az 1978-ban jelentkezett nők és férfiak testméreteinek és indexeinek átlagértékei és szórásai

Table 19. Means and S.D.'s of body dimensions and indices in females and males applying for admission in 1978

	NŐK (N = 102)			
	Abszolút		Relatív	
	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s
Testmagasság	164,54	5,61	—	—
Testsúly	58,12	6,80	35,52	4,13
Metrikus index	-1,26	0,31	—	—
Plasztikus index	78,73	2,98	47,85	1,81
Könyökszélesség	6,13	0,31	3,73	0,19
Térdszélesség	9,76	0,60	5,93	0,35

	FÉRFIAK (N = 130)			
	Abszolút		Relatív	
	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s
Testmagasság	176,04	6,32	—	—
Testsúly	70,31	7,62	39,94	4,32
Metrikus index	-0,92	0,33	—	—
Plasztikus index	89,41	3,04	50,78	1,72
Könyökszélesség	7,05	0,35	4,01	0,20
Térdszélesség	10,23	0,61	5,81	0,34



## XX. táblázat

A Testnevelési Főiskolára 1972–1978 között jelentkezett nők ( $N = 831$ ) testméreteinek és indexeinek évek szerinti összehasonlítása a variancia-analízis kivonatos eredményei alapján (A 6 és 824 szabadságfokhoz tartozó F-tábla érték: 2,10.)

Table 20. A year by year comparison of body dimensions and indices in the females applying for admission to the Hungarian University of Physical Education between 1972 and 1978 ( $N = 831$ ). Extract of anova results (reference value of F at 6 and 824 d.f.'s = 2.10).

## METRIKUS INDEX

VAR = 0,09

F = 4,95

KD = 0,13

Év	75	76	72	74	73	77	78
$\bar{x}_j$	-1,08	-1,09	-1,11	-1,14	-1,16	-1,20	-1,26

PLASZTIKUS INDEX (abszolút): az F-próba eredménye nem szignifikáns.

Év	78	77	72	74	75	76	73
$\bar{x}_j$	78,73	78,72	78,52	78,01	77,86	77,86	77,85

PLASZTIKUS INDEX (relatív)

VAR = 3,26

F = 2,51

KD = 0,79

Év	72	74	77	78	73	75	76
$\bar{x}_j$	48,39	47,96	47,88	47,85	47,80	47,69	47,58

TESTMAGASSÁG

VAR = 28,28

F = 3,00

KD = 2,30

Év	78	77	76	75	73	74	72
$\bar{x}_j$	164,58	164,41	163,64	163,44	162,85	162,66	162,27

TESTSÚLY (abszolút)

VAR = 32,71

F = 2,89

KD = 2,47

Év	78	77	76	73	72	75	74
$\bar{x}_j$	58,12	57,66	57,02	56,32	56,19	55,97	55,64

TESTSÚLY (relatív): Az F-próba eredménye nem szignifikáns.

Év	78	77	76	72	73	75	74
$\bar{x}_j$	35,32	35,07	34,84	34,62	34,58	34,24	34,21

KÖNYÖKSZÉLESSÉG (abszolút)

VAR = 0,11

F = 9,91

KD = 0,14

Év	76	75	73	78	74	72	77
$\bar{x}_j$	6,28	6,20	6,18	6,13	6,11	6,06	5,99

**KÖNYÖKSZÉLESÉG (relatív)**

VAR = 0,04

F = 11,42

KD = 0,09

Év	76	73	75	74	72	78	77
$\bar{x}_j$	3,84	3,79	3,79	3,76	3,73	3,73	3,64

**TÉRDSZÉLESÉG (abszolút)**

VAR = 0,29

F = 29,29

KD = 0,23

Év	78	77	76	74	75	72	73
$\bar{x}_j$	9,76	9,74	9,39	9,24	9,23	9,19	9,06

**TÉRDSZÉLESÉG (relatív)**

VAR = 0,11

F = 21,16

KD = 0,14

Év	78	77	76	74	72	75	73
$\bar{x}_j$	5,93	5,92	5,74	5,68	5,66	5,65	5,56

VAR = maradék (csoporton belüli) variancia

F = a mintából számított F-próba értéke, melyet a 6 és 824 szabadságfokhoz tartozó 5%-os (2,10) és 1%-os (2,80) táblaértékhez hasonlítottunk

KD = kritikus differencia SCHEFFÉ szerint

Az aláhúzás a statisztikailag egymástól nem különböző csoportokat jelöli.

**XXI. táblázat**

A Testnevelési Főiskolára 1972–1978 között jelentkezett férfiak (N = 818) testméreteinek és indexeinek évek szerinti összehasonlítása a variancia-analízis kivonatos eredményei alapján (A 6 és 810 szabadságfokhoz tartozó F-tábla érték: 2,1.)

Table 21. A year by year comparison of body dimensions and indices in the males applying for admission to the Hungarian University of Physical Education between 1972 and 1978 (N = 818). Extract of anova results (reference value of F at 6 and 810 d.f.'s = 2,10)

**METRIKUS INDEX**

VAR = 0,10

F = 6,19

KD = 0,14

Év	75	77	74	76	78	72	73
$\bar{x}_j$	-0,80	-0,80	-0,84	-0,85	-0,92	-0,95	-0,98

**PLASZTIKUS INDEX (abszolút)**

VAR = 9,23

F = 14,78

KD = 1,20

Év	78	77	75	74	76	73	72
$\bar{x}_j$	89,41	88,17	87,71	86,80	86,70	86,70	86,55



**PLASZTIKUS INDEX (relatív)**

VAR = 2,98

F = 9,78

KD = 0,79

Év	78	77	75	73	74	72	76
$\bar{x}_j$	50,78	50,32	49,85	49,66	49,59	49,50	49,47

**TESTMAGASSÁG:** Az F-próba eredménye nem szignifikáns.

Év	78	75	76	77	74	72	73
$\bar{x}_j$	176,04	175,94	175,26	175,21	175,05	174,77	174,57

**TESTSÚLY (abszolút):** Az F-próba eredménye nem szignifikáns.

Év	78	76	77	75	74	73	72
$\bar{x}_j$	70,31	69,76	69,55	69,41	69,33	69,17	68,82

**TESTSÚLY (relatív):** Az F-próba eredménye nem szignifikáns

Év	78	76	77	73	75	72	74
$\bar{x}_j$	39,94	39,80	39,70	39,62	39,44	39,38	39,31

**KÖNYÖKSZÉLESÉG (abszolút)**

VAR = 0,13

F = 14,15

KD = 0,16

Év	75	76	73	77	74	78	72
$\bar{x}_j$	7,36	7,25	7,16	7,14	7,06	7,05	7,02

**KÖNYÖKSZÉLESÉG (relatív)**

VAR = 0,04

F = 11,96

KD = 0,09

Év	75	76	73	77	74	78	72
$\bar{x}_j$	4,18	4,13	4,10	4,08	4,03	4,01	4,01

**TÉRDSZÉLESÉG (abszolút)**

VAR = 0,31

F = 16,21

KD = 0,25

Év	78	74	75	73	76	72	77
$\bar{x}_j$	10,23	10,12	10,09	9,99	9,97	9,93	9,53

**TÉRDSZÉLESÉG (relatív)**

VAR = 0,10

F = 14,90

KD = 0,14

Év	78	74	75	73	72	76	77
$\bar{x}_j$	5,81	5,78	5,73	5,72	5,69	5,66	5,46

Jelölések: mint a XX. táblázatban

A nők *testmagasságának* alakulásában figyelemre méltó, hogy a termet, kismértékben ugyan, de évről-évre nő. Ez a növekedés az 1972-ben jelentkeztek testmagasságához viszonyítva statisztikailag önmagában is szignifikáns különbséget eredményez 1978-ra. Az évjáratok átlagok egymásutánjára vonatkozó regressziós konstans értéke 0,4 cm/év, a korrelációs koefficiens pedig 0,97. Mindkét kapcsolati mérőszám 0,1%-os véletlen hiba szinten szignifikáns.

A férfiak testmagasságában a legnagyobb és a legkisebb évjáratok értékei között a különbség nem haladja meg az 1,5 cm-t. A statisztikai analízis eredménye alapján nem különbözik egymástól a felvételre jelentkezett hét csoport testmagassága. Az évjáratok átlagok egymásutánja irányultságot nem mutat.

A nők *testsúly* értékei között szintén kimutatható statisztikai különbség: az 1978-ban jelentkezettek legnagyobb és az 1974-ben jelentkezettek legkisebb azonossága viszont arra utal, hogy a súlynövekedés arányos volt a testmagasságával. Mind az abszolút, mind a relatív testsúlyok változási tendenciáját hasonlónak találtuk: kezdeti csökkenés, 1974-ben mélypont, majd emelkedés. A változás görbéjében mind az első, mind pedig a másodfokú komponens szignifikáns. A regressziós elemzés determinációs együtthatója magas: 0,95/abszolút, illetve 0,92/relatív.

A férfiak testsúlyértékeiben sem abszolút, sem relatív értelemben nincs lényeges különbség. Az évjáratok átlagok sora szignifikáns növekedést mutat (évi 0,2 kg növekmény,  $r = 0,93$ ). Hasonló, de mérsékelt tendencia mutatható ki a relatív testsúlyokban is ( $r = 0,77$ ).

A nők *metrikus indexének* évjáratok értékei az 1978-ban mért, viszonylag alacsony mérőszámtól eltekintve statisztikailag nem különböznek egymástól. A főiskolai felvételi vizsgákra jelentkező nők metrikus indexe a metromorfiás sáv fölött helyezkedik el, tehát CONRAD eredeti minősítése szerint kissé leptomorfa. Ortogonális kontrasztokkal elemezve az évjáratok átlagértékeinek egymásutánja nem mutat a test-linearitás fokozódására utaló tendenciát, ezért az a véleményünk, hogy a termet növekedése ellenére sem beszélhetünk egyértelműen a nyúlánság fokozódásáról.

A férfiaknál a metrikus index évjáratok értékei között statisztikailag különbségek bizonyíthatók. E különbségek szakmai tartalma azonban nehezen értelmezhető. A kritikus differencia 0,14 egység, ami az alkatban, annak megítélésében még nem jelent jól megragadható különbséget, tehát a felvételizők hét csoportját e jelleg szempontjából hasonlónak tekinthetjük. Az évenként jelentkező csoportok átlagértékei a CONRAD szerinti eredeti minősítés alapján a metromorfiás zónánál enyhén leptomorfabb sávban helyezkednek el. Nagyon valószínű, hogy a Testnevelési Főiskolára felvételi vizsgára jelentkezett fiatalok átlagos metrikus indexe igen közel van a fiatal felnőtteket napjainkban jellemző sávhoz, ma ezt minősítenénk metromorfiás zónának. Az egymást követő évjáratok átlagértékei irányultságot nem mutatnak.

A nők *plasztikus indexének* abszolút mérőszámai a hét év folyamán nem különböznek egymástól; a metroplasztikusnak nevezett tartományban található. A plasztikus index relatív mérőszáma is csak az 1972-ben jelentkezett (legalacsonyabb termetű) csoportban szignifikánsan nagyobb, mint a további hat év során jelentkezőkön talált értékek. A plasztikus index évjáratok átlagainak egymásutánjában talált szignifikáns másodfokú tendencia a kezdeti magasabb értéktől az 1976-os minimumig csökkenő, majd ismét emelkedő és a vizsgálati időszak kezdetén tapasztaltnál magasabb értékre jutó ívet ír le ( $R = 0,87$ ).



A férfiak plasztikus indexének abszolút és relatív értékeiben egyaránt vannak szakmailag jelentős különbségek. Az 1978-ban jelentkezettek csoportjában a legnagyobb a plasztikus index, ez az érték szignifikánsan nagyobb, mint a másik hat csoportban mért érték. Az 1977-ben és az 1978-ban jelentkezett férfiak plasztikus indexeinek átlagértéke a metroplasztikus zónától jobbra helyezkedik el, ezek alapján csont-izomrendszeri fejlettségük az átlagosnál jobbnak minősíthető. A plasztikus index egymást követő évjáráti átlagai regresszió analízissel szignifikáns növekedést mutatnak (az évenkénti növekmény: 0,41;  $R = 0,83$ ). Hasonló tendenciát követ a testmagassághoz viszonyított relatív plasztikus index is.

Az *indexek együttes értelmezése* alapján a hét év folyamán felvételre jelentkezett nők CONRAD eredeti értelmezése szerint kissé leptomorfnak és metrop-lasztikusnak minősíthetők. Hozzá kell tenni azonban, hogy napjainkban a nőknél is minden valószínűség szerint a Testnevelési Főiskolára jelentkezettek által elfoglalt hely jelenti az érvényes metromorfiás mezőt. Az összes felvételre jelentkezett fiatal felnőtt nő CONRAD indexpárjának átlaga:  $-1,09; 78,22$ .

Az 1972—1978 között felvételi vizsgára jelentkezett fiatal felnőtt férfiak enyhe leptomorfiát mutatnak és a két utolsó hiperplasztikus évjáráttól eltekintve a metroplasztikus zónában helyezkednek el. A jellemző indexérték-pár:  $-0,88; 86,60$ .

A nők *könyök és térdszélességének* évjáráti alakulása nagyon változatos képet mutat. Mindkét méretben statisztikailag is értékelhető különbség mutatható ki. Egységes tendencia csak a térdszélesség abszolút és relatív évjáráti átlagaiban bizonyítható: lassú egyenesvonalú növekedés észlelhető, amely évi 1,1 mm-t tesz ki ( $r = 0,90$ ).

A könyök és térdszélesség mérőszámaiban a férfiaknál is nagy variabilitás tapasztalható a hét év folyamán. Érdekes, hogy az e két mérethől képzett és a testmagassághoz viszonyított (relatív) értékek nagyság szerinti sorrendbe rendezése után az abszolút értékekkel megegyező sorrendet kapunk a jelentkezési év szempontjából. A sorban lineáris vagy kvadrátikus irányultságot nem észleltünk.

Ahogy az eredményekből kitűnik, az évjáráti csoportok statisztikailag és szakmailag értékelhető különbségeinek a száma lényegesen *kevesebb*, mint az elméletileg lehetséges. Néhány ezek közül is származékos, mert elsősorban a testmagasság mérőszámainak változásával kapcsolatos. Az a kép alakult ki tehát *a hét év során felvételre jelentkezett fiatal felnőttekről*, hogy összességükben nézve egymáshoz nagyon hasonlóak, vagy helyesebben fogalmazva, *egymástól nem különböznek*: szakmailag tekintve a statisztikailag kimutatott különbségek csekélyek. Ugyanakkor a regresszió analízisek tanúsága szerint, ha minimális mértékben is, de statisztikailag igazolható módon a testméreteken inkább növekedés, mint csökkenés észlelhető.

### Megbeszélés

Az egyedfejlődés folyamatában jelentkező akceleráció (vagy a retardáció megszűnése) és az egymást követő nemzedékek alkatának a megjelenési formája, amely — elsősorban a megváltozott környezeti hatások következtében — szintén módosulhat, az utóbbi évtizedekben hazánkban is az érdeklődés középpontjában áll. A jelen tanulmány ezeknek a hosszabb ideje érvényre jutó



hatásoknak a testi felépítésben, a testszerkezetben is mérhető egyes következményeit kívánta tanulmányozni. Ez is rendkívül nehéz feladatot jelent, mégsem elégedhetünk meg a pillanatnyi helyzet egyszerű, lefró jellegű bemutatásával.

Az eredmények megbeszélése előtt azokat az *eljárásokat* is mérlegre kell tenni, amelyeket felhasználva eredményeinkhez eljutottunk.

Mérőszámok és indexek alkalmazása az antropológiában általánosan elterjedt gyakorlat. A munkánk során alkalmazott indexek a *növekedési típus* minősítésére szolgálnak [8]. Ezeknek az indexeknek több olyan praktikus feltételnek is eleget kell tenniük, amelyek az emberrel foglalkozó más tudományok területéről ismeretesek. Az alkalmazhatóság feltételeiként a következőket emelhetjük ki:

- a több tulajdonságot együttesen jellemző mérőszám az összetett folyamat vagy jelenség lényegére mutasson rá;
- lehetőleg szemléletes formában közvetítse a biológiai tartalmat;
- legyen objektív és érvényes, tehát valóban arra a tulajdonságegyüttesre vagy jelenségre mutasson rá, amelynek jellemzésére szolgál;
- ha egy rendszeren belül több index (mérőszám) kerül felhasználásra, azok legyenek kombinálhatók és kombinációjuk adjon többletismertet;
- végül, előállításuk ne legyen körülményes vagy időigényes, mert ez gátja lenne a széleskörű alkalmazhatóságnak.

A dolgozatban elemzett indexek és viszonyszámok bizonyos megszorításokkal a fenti követelmények mindegyikének eleget tesznek. A CONRAD-féle indexpár más szempontú besorolást tesz lehetővé, mint a nemzetközi és újabban a hazai irodalomból is ismert HEATH—CARTER módszer. Mint a metodikai fejezetben ismertettük, a metrikus és plasztikus index lényeges tulajdonságokat emel ki. A módszer névadójának szemléletében azonban a sajátos vonást a minőségi és mennyiségi jellemzők összekapcsolása adja, vagyis az, hogy a mellkas alakján keresztül az egész test alakját igyekszik megragadni és ehhez az alaki tényezőhöz rendeli hozzá a csont-izomrendszer fejlettségét. Az indexpár számértékei szemléletesen, pontosan és objektíven tükröznek több fontos alkati tulajdonságot, amelyek részben a test arányaiból, részben erőteljességének mennyiségi mutatóiból erednek. Az indexek objektivitását egyrészt az előállításukhoz szükséges testdimenziók objektív mérhetősége alapozza meg, másrészt pedig a módszernek az a lényeges vonása, hogy az alkatot kialakító tulajdonságokat különböző, de jellemző szövetféleségek alapján határozza meg. A módszer megbízhatóságát (érvényességét) kidolgozásakor STRÖMGREN azáltal biztosította, hogy a többszörös regresszió analízissel nyert eredményeket KRETSCHMER eredeti típus-meghatározásaival vetette egybe. Az indexkombinációk ebben a rendszerben is — mint minden más alkattípus meghatározására szolgáló eljárásban — csak a biológiai realitás keretei között valósulhatnak meg. A metrikus és plasztikus index képzésének idő- és eszközigénye minimális, tehát nem akadály a széleskörű alkalmazhatóságnak és a szemléletességük is megfelelő.

Az alkalmazott indexek — tartalmi mondanivalójuk mellett — az alkatot kialakító tulajdonságokat technikailag is könnyen kezelhetően, folytonos skálán kifejezhetően jelenítik meg. Ez lehetővé teszi a tulajdonságegyüttesek statisztikai összehasonlítását, a több testméret együttes változása eredményeként bekövetkező alkatmódosulások, variánsok elemzését. A módszer-kritika tárgyi-



lagossága megkívánja, hogy megemlítsük: a több alapadatból összevont mérőszámok és indexek előállításánál általában bizonyos mennyiségű információvesztéssel is számolnunk kell. Az összevont mérőszámok mindig absztrakciók, a főbb vonulatokra hívják fel a figyelmet és ezt csak a részletek rovására tehetik meg. Így, ha nem is gyakran, de előfordulhat, hogy az indexek a többé-kevésbé eltérő alaptestméretek ellenére hasonlóak, vagy a szakmai és statisztikai szempontok figyelembevételét követően, akár azonosak is lehetnek. Az ilyen információvesztéset — ahol lehet — érdemes csökkenteni: munkánkban ezért arra törekedtünk, hogy az összetett jellegek vizsgálata mellett az eredmények között bemutatott alapadatok elemzését is elvégezzük, majd a valóság e két oldalát együttesen elemezzük. Úgy gondoljuk, hogy ez a módszer nemcsak kiküszöbölheti az információvesztéset, hanem még többletismeretet is eredményez, a metodológiai háttér pedig a részeredmények beillesztését segíti az összefüggő képbe.

A vizsgált testalkati jellegeknek a 6—16 éves korra vonatkozó tárgyalásában célszerűnek látszik először a több testméret változását és az alkat módosulásait együttesen jellemző, CONRAD-féle alkatindexek változásainak részletes megbeszélése. Ezt az is indokolja, hogy az indexpár változása az életkor előrehaladtával mindkét nemből jól felismerhető szabályszerűségeket mutat. Ezek alapján érdekes betekintést nyerhetünk a szerkezet arányainak átrendeződési folyamataiba.

A *metrikus index* értékeinek egymásutánja a testmagasság és a mellkas-méretnek, így az alak fejlődésében bekövetkező arányingadozást mutatja ki. Arra utal, hogy mi valósult meg az egyén fejlődését döntően meghatározó endogén tényezőkből. Önmagában nem jelent értékítéletet, mert a gyermekeken és serdülőknél tapasztalt különböző mértékű leptomorfiás eltolódás csak variáns, tehát az elnevezésben rejlő tulajdonság (leptomorfia = „könnyű alakúság”) semmi esetre sem egyszerűen kedvező vagy kedvezőtlen állapotot jelent.

A környezet emberileg irányítható hatásai közül a testnevelésnek is vannak olyan eszközei, amelyekkel befolyásolni lehet és kell is az öröklött lehetőségeken belül a tulajdonságokat, illetve azok mértékét. Kirívó alkati szélsőségekkel vizsgálataink során nem, vagy csak elenyésző számban talákoztunk, mivel ennek a kedvező ráhatásnak lehetősége minden életkorban biztosított, ha ismerjük és figyelembe tudjuk venni az alkat és a mozgatórendszer fejlődésének menetét.

A *plastikus index* életkoronkénti változása a passzív és aktív mozgatórendszer fejlődését jellemzi. A funkcionális állapotot illetően már ismételtén igazolódott, hogy a nagyobb plastikus indexszel jobb teljesítmény jár együtt és fordítva; legalábbis gyermek- és serdülőkorban [33, 34].

A két mérőszám együttes értelmezése megbízható képet ad a fejlődő szervezet adott korban érvényes alkati állapotáról és alakjáról. A fővároson belül a lakóhely szerinti, kiegyenlítettnek tekinthető megoszlás és az egyes életkori csoportokat képviselő tanulók száma lehetővé teszi, hogy a tapasztalt fejlődési tendenciákat, a változások időbeni és mennyiségi viszonyait általánosítsuk a hetvenes évek második felének budapesti fiataljaira. A bemutatott átlagértékek és szórások életévek szerinti sorozata tehát mind további csoportok, mind pedig egyének összehasonlításához megfelelő kiindulópont. Az indexpár által szolgáltatott ilyen információkat jól egészíti ki az egyes testméreteknek és e méretek testmagasságához viszonyított értékeinek elemzése.



Az indexpár változásainak értékelését nemenként külön kell elvégezni részben az eltérő regressziók, részben az indexek alapjául szolgáló testméretek dimorf jellegű fejlődése miatt.

A két index együttes értelmezése alapján a *lányoknál* a következő fejlődési periódusok különíthetők el:

1. 6—10 éves kor
2. 11—14 éves kor
3. 15—19 éves kor.

Az *első szakaszban* a lányokra a viszonylag változatlan alkat, a dinamikus egyensúlyi állapot a jellemző. Gyors változás a testméretek abszolút értékeiben sem tapasztalható és ennek megfelelően a testarányok állandósága, előnyös stabilitása jellemzi az adott kort. Ennek a fejlődési szakasznak első három évében a lányokat a többé-kevésbé kifejezett nyúlánkság, a kecsességet biztosító leptomorfa mellett a mozgatórendszer viszonylag jól fejlett állapota jellemzi. Nagy mulasztás, ha ebben a korban kimaradnak a sokrétű mozgásingerek, a célszerű foglalkoztatás. A periódus végére már megfigyelhető az egyensúlyi állapot kismértékű megbomlása, amely elsősorban a termet növekedésében tapasztalható gyorsulás következménye.

A *második fejlődési szakasz* az intenzív növekedés időszaka; egybeesik a serdülés kezdetével és annak befejezésével zárul. A termet megnyúlása harmonikus, a szélességi és körfogat méretek szinte arányos növekedésével. A mellkas méreteinek százalékos növekedése lépést tart a testmagasságéval, sőt meghaladja azt. Ennek megfelelően a metrikus index pozitívabb értékeket vesz fel. A plasztikus index abszolút értéke természetesen nő, relatív értéke viszont minimálisan csökkenő tendenciát mutat. A plasztikus index további változásában döntően a vállszélesség és az alkarkerület növekedése játszik szerepet, mivel a kézkörfogat növekedése 12 éves kortól nem jelentős. A 14 éveseket jellemző metrikus index már hasonló a felnőtteket jellemző, közel metromorfiás értékekhez. Az általános iskolás kor végére a mozgató rendszer fejlettsége spontán is jelentősen megközelíti a felnőttekét. A szakasz végére kialakuló harmonikus alak, ha az előző időszakban nem hanyagolódott el az ügyesség és az állóképesség fejlesztése, előképzése, kitűnően alkalmazkodik a dinamikus erőgyakorlatokhoz és jól reagál a gyorsaság fejlesztésére is.

Az ezt követő *harmadik fejlődési periódusban* gyakorlatilag változatlan testarányok mellett befejeződik a mozgatórendszer spontán növekedése, kialakul a nőket jellemző testszerkezet, testarány és összetétel. A testtömegben az inaktív szövetek aránya nő, az érettséggel együttjáró női hormon túlsúly ellene hat a izomtömeg spontán gyarapodásának.

Az indexértékek együttes értelmezése alapján a *fiúknál* a következő fejlődési időszakok jelölhetők ki:

1. 6—9 éves kor
2. 10—13 éves kor
3. 14—16 éves kor
4. 18—19 éves kor.

Az *első periódusban* a fiúkat az óvodáskorban lezajló alakváltozást követően viszonylagos egyensúlyi állapot jellemzi. A testméretek testmagassághoz viszonyított arányai a külső megjelenés és a funkciók szempontjából is kedvezőek, százalékosan pedig már eléri vagy meghaladják a felnőtt értékek  $\frac{2}{3}$ -át,  $\frac{3}{4}$ -ét. A korcsoportot a metromorfiához közelálló, tehát kiegyenlített kerekdedség és megfelelőnek mondható csont- és izomrendszeri fejlettség jel-



lemzi. A súly még kicsi, ami számos ügyességi mozgásban előnyös és óv a sérülésektől.

A *második időszakban* újabb változás veszi kezdetét. Az addig fokozatos, de 12 éves korra már kifejezett hosszúsági növekedés következtében a testarányokban átalakulás következik be, a mellkas méretei növekedésük tempójában elmaradnak a testmagasságtól. Az előző korcsoport, vagy a fiatal felnőttek értékeihez viszonyítva ezek a fiatalok kissé leptomorfabbak. A plasztikus index relatív mérőszáma is csökken és 12—13 éves korra éri el a legalacsonyabb értéket. Ez az időszak bevezetője és kezdete a pubertáskori minőségi és az ezt követően kialakuló, intenzív mennyiségi változásoknak. Ekkor jelentkezik a csontvégek jelentős megvastagodása is, mintegy megelőzve a pubertáskori növekedési lökést. Ekkor tehát nyúlánkabb és kevésbé erőteljes a serdülő fiú.

A *harmadik periódus* a serdülés kiteljesedésének és a felnőtté válás kezdetének a szakasza. A testarányok hirtelen megváltoznak. A nagymértékű természetbeli növekedés következtében elsősorban a relatív mérőszámokban jön létre lényeges változás, bár a növekedési lökés a vizsgált testméretek többségében ugyanerre az időre tehető. A metrikus index kissé negatívabbá válik, fokozottabb a leptomorfia és a relatív plasztikus index értéke még mindig viszonylag kicsi. Nem csodálkozhatunk, ha magára hagyatva, tehát megfelelő testnevelés és sportmunka nélkül szétesik a koordináció. Eleinte nem ritka a hamar jelentkező testi és szellemi fáradtság sem. A spontán fejlődés csak az időszak végére hozza meg az erősödést, éppen a városiakok alacsony aktivitási szintje miatt.

A *negyedik periódus* az újabb egyensúlyi állapot kialakulásának az időszaka. A hosszúsági és szélességi méretek, nem utolsósorban a testsúly növekedése szinte teljesen befejeződik, és kialakul a fiatal felnőtteket jellemző testszerkezet.

Annak eldöntése, hogy a vizsgálati anyagunkat képviselő gyermekcsoport testalkati jellemzőiben történt-e a korábbiakhoz viszonyítva valamilyen módosulás, csak úgy lehetséges, ha eredményeinket összehasonlítjuk más hazai szerzők által közölt eredményekkel. Ez a lehetőség csak a testméretek (*alapszámok*) vonatkozásában realizálódhat, mivel hazai mintán a CONRAD-féle növekedési típus besorolás alkalmazásáról nincs tudomásunk. A nemzetközi irodalomban is csak a 19 évesnél idősebb csoportokon mért eredmények ismereteseek [52].

A mintánknál szélesebb életkori tartományt átfogó, keresztmetszeti vizsgálat 1971-ben jelent meg [11]. Így néhány testméréssel kapcsolatosan rendelkezésünkre áll a korban is megfelelő referencia. A lányok testmagassága 10 éves korig tekinthető EIBEN és mtsai 1968—69-es mintavételével megegyezőnek, más életkorokban a 70-es évek közepén mért értékek a nagyobbak. Érdekes, hogy 11—14 éves lányok testsúlya a mi vizsgálatunkban a kisebb, majd ezt követően, 15—18 éves korban a nagyobb.

A fiúk testmagassága a jelen anyagban a nagyobb, ugyanakkor a 18—19 éveseknél már teljesen egyezik a korábbi adatokkal. A testsúly értékek a 6—11 éves korra vonatkozó korábbi adatoktól nem térnek el, viszont 12 éves kortól kezdve következetesen nagyobbak anyagunkban. Az 1952-es adatokhoz viszonyítva [53] az 1968—69-ben felvett testméretek minden életkorban lényegesen nagyobbak voltak. Eredményeink alapján úgy látszik, hogy ez a tendencia tovább tart. Természetesen a különbségek kisebbek, mint korábban voltak, de a két utóbbi vizsgálat között is lényegesen kevesebb idő telt el, mint VIOLA és EIBEN adatfelvétele között. Az is kérdés, hogy a 70-es években nagyobb



méretekkel jellemezhető serdülők a növekedés folyamatának befejezése után, felnőtt korukban is nagyobbak lesznek-e, vagy pedig egyszerűen a növekedési ritmus megváltozását regisztráltuk. Ennek eldöntésére további vizsgálatok szükségesek. Más, szűkebb körű, vidéki települési anyagon végzett vizsgálatok eredményei alapján is kimutatható a testméretek között a mintánkénti különbség, még olyan esetben is, amikor a két minta adatfelvétele közel áll egymáshoz: 1974, Gyoma [16], illetve 1969, Kaposvár [28]. A kaposvári eredményekkel [19] összevetve adatainkat, a testméretek között szinte nem is tudunk különbséget kimutatni. A testméretek csoportok közötti variabilitásának szemléletes példája, hogy az ugyanonnan EIBEN által közölt testméretek egy része szinte teljesen megegyezik eredményeinkkel — ezek a csontméretek —, a másik része pedig következetesen kisebb, pl. a testmagasság, a testsúly [13]. Ugyanezt támasztják alá SZÖLLŐSI és JÓKAY [50] Debrecenben mért eredményei is, melyek szerint az azonos korú, de különböző iskolatípusban tanuló gyermekek testméretei között is bizonyítható különbség, pedig ebben az esetben nemcsak az életkor volt azonos, hanem a különböző iskolatípusok területi vonzásköre is.

Lényeges és kiemelésre érdemes, hogy az iskolai szakosítás (testnevelési osztályok) nem eredményez gyermekkorban testméretbeli eltéréseket a testnevelési és nem testnevelési osztályok tanulói között [34, 35]. Ezen utóbbi vizsgálatok eredményei csupán 100—300 fős minták összehasonlításán alapulnak ugyan, de hasonló eredményre vezettek a főváros különböző iskoláiban is.

Eredményeink, valamint az irodalmi adatokkal történt összehasonlítás alapján végleges vélemény még nem alakítható ki. Van néhány olyan tény, amely kapcsolatba hozható a fejlődés menetének a gyorsulásával, elsősorban a fiúknál (a kisgyermekkor és a fiatal felnőttkori méretek egyformasága mellett a közbenső évjáratokban a 70-es években mért értékek voltak a nagyobbak), de ugyanennyi vagy talán még több részlet is arra utal, hogy random variabilitás okozza az eltéréseket. Feltehetően mégis lényegesen lassúbb az utóbbi tíz évben az akcelerációnak nevezett jelenség, mint akár 25—30 évvel ezelőtt.

Ezek után vizsgáljuk meg, hogy hogyan értelmezhető a Testnevelési Főiskolára jelentkezett *fiatal felnőttek* testméreti különbségei. A fiatalok testi fejlettségének nem kielégítő voltáról alkotott vélemények lassan már előítéletté alakulnak. Amennyiben ezek a megállapítások nem igazolhatók eredményeink alapján, akkor el kell vetni azokat, mivel egy speciális csoportról van szó (legáltalában a pályaválasztás és az ezzel kapcsolatos életmód alapján), az ok éppen a csoport specifikumában, a fizikai aktivitásban keresendő.

A fiatal felnőttek esetében is célszerű először az *összevont mérőszámok* alapján történő jellemzést elvégezni.

A *férfiaknál* a leptomorfia, a nyúlánkság, a metrikus index negativitása a vizsgálati periódus hét éve alatt nem fokozódott. A plasztikus index értékei a mozgatórendszeri fejlettség jellemzői. Ebben pedig a férfiaknál éppen növekvő tendencia volt kimutatható az átlagértékek jelentkezési év szerinti sorrendjében.

A *nőknel* a metrikus index évenkénti értékei valóban mutatnak különbségeket, de a test kerekdedségének ingadozásai nem rendeződnek olyan sorba, hogy ebből fokozódó leptomorfiára lehetne következtetni. A plasztikus index átlagértékeinek a sora eleinte minimális csökkenést, utána pedig minimális növekedést mutatott, és míg a férfiaknál a testmagassághoz viszonyított plasztikus index is az abszolút értékekhez hasonlított, a nőknél ilyen nem tapasztaltunk.



A kapott kép nem lenne teljes, ha nem egészítenénk ki az *alapedatok* szintjén tapasztalt részletekkel, hiszen még változatlan fő arányok és alkati sajátságok esetén is előfordulhat, hogy fontos részletek valóban figyelemreméltó változásokon mennek át az évek folyamán.

A nőknél a testmagasság növekedése szembetűnő volt. Ezzel párhuzamosan a testsúly és a térdszélesség változásaiban ismerhető fel az évek során arányosnak tekinthető növekedés. Hogy ennek ellenére mégsem tapasztaltuk a nyúlánkság fokozódását, az annak a következménye, hogy e méretek növekedése a testmagasság növekedésével egyensúlyban zajlott le, így lényeges aránybeli eltolódást nem eredményezett. A jelentkezési évek alapján a testméretek variabilitása nem olyan mértékű, hogy nagyobb jelentőséget kellene tulajdonítani neki. Az abszolút értékek átlagainak egymás közti különbségei még akkor sem mindig hordoztak szakmai tartalmat, ha statisztikailag bizonyíthatók voltak.

Lényeges arányváltozás a *férfiakon* sem bizonyítható. A férfiak esetében ezek a testméretek jelentik a vizsgált paraméterek többségét, amelyek átlagértékeiknek alakulásában sem az első-, sem pedig a másodfokú komponens nem szignifikáns.

A most már teljessé tett kép ismeretében a Testnevelési Főiskolára jelentkezett fiatal felnőttek testméretei és testalkati jellemzői nem támasztják alá az alkati adottságok fokozatos romlására utaló nézetet, legalábbis a vizsgált periódus hét éve alatt. A jellemzők többsége a kisebb ingadozásoktól eltekintve változatlan, kisebb része pedig éppen hogy növekvő tendenciát mutat. A több oldalról is megvizsgált helyzet tehát ellentmond a felvételiztető pedagógusok megállapításának, hogy évről évre gyengébb adottságú fiatalok jelennek meg a felvételi vizsgákon. Eredményeink alapján ezért arra az álláspontra kell helyezkednünk, hogy *testalkatukra nézve a jelentkezők lényegesen nem változtak a hét év folyamán, de ha a legapróbb módosulásokat is figyelembe vesszük, akkor is inkább a kedvezőbb irányban haladt a mozgás.*

Annak eldöntésére, hogy ezek szerint valójában milyennek tekintsük a Testnevelési Főiskolára jelentkezőket az alkattípus és a testméretek alapján, kétfajta összehasonlítási alap volna alkalmazható. Az egyik elméleti lehetőség, amely az alkattípus meghatározására szolgáló rendszerekben az arányos, kiegyensúlyozott felépítésű egyéneket vagy csoportokat jellemző típust (itt a metromorf-metroplastikust) jelöli meg tájékozódási pontként az eltérések elbírálásában. Tény, hogy ezek a pozíciók (anyagunkban a nőknél  $-1,1/78$ , a férfiaknál  $-0,9/87$  számpárokkal adható meg a nemek szerinti csoportátlag) a valóságban előforduló variánsok közül sokat jellemeznek, de esetünkben mégis az volna célszerűbb, ha nem általános, elméleti referenciát használunk, hanem mintánk jellemzését a másik lehetőség alapján, a hozzájuk hasonló csoportok értékeivel történő összevetés révén adjuk meg.

Mik lehetnek azonban azok a kritériumok, amelyek szerint a Testnevelési Főiskolára jelentkezők csoportjai és más csoportok hasonló jellege kimutatható? Az egyik ilyen feltétel mindenképpen a közel azonos életkor. A másik megkerülhetetlen tényező a fizikai aktivitás hasonló szintje. Ebből a szempontból az aktívan sportoló fiatalok köre jöhet szóba. Azonban az egyes sportágak versenyzői szűkebb területen, egy-egy sportág mozgásanyagával intenzívebben és nagyobb terjedelemben foglalkoznak. A Főiskolára jelentkezőknél mennyiségében a mozgásanyag hasonló ugyan, hiszen több testgyakorlati ág mozgásanyagát ismerik meg a felvételre való felkészülés során, de az intenzitás összes-



ségében véve kisebb, mint a versenyzőknél. Erről az összehasonlítási lehetőség-ről mégsem mondhatunk le teljesen. Az összehasonlíthatóság harmadik kritériuma lehet, hogy a viszonyítási csoport is valamelyik felsőoktatási intézmény hallgatóit mutatja be. A legkényelmesebb lehetőségről le kell mondanunk: másik testnevelési főiskola nem működik hazánkban, és átfogó képünk a más felsőoktatási intézmények testnevelés szakos hallgatóinak testalkati jellemzéséről sincs; csupán reménykedhetünk, hogy a későbbiekben megindul az ilyen irányú, széleskörű és rendszeres adatgyűjtés.

A CONRAD-féle besorolási rendszerben saját munkánkon kívül tudomásunk szerint egyáltalán nincs hazai adat. A külföldi irodalomban is csak az NDK sportolókról találunk közlést [52], életkori adatok híján azonban érdemi összehasonlításra nem kerülhetett sor. A növekedési típus tekintetében ezért nem nyílt megfelelő összehasonlításra lehetőségünk; anyagunk mérésorozata így tipológiailag mindaddig magányos és leíró marad, amíg a fenti feltételeket kielégítő, hasonló aktivitású csoportokat magában foglaló összehasonlító anyag nem kerül közlésre.

Valamivel jobb a helyzet az egyes testméretek vonatkozásában. Néhány fontosabb testméretet az utóbbi évek anyagát feldolgozó közlemények adataival összehasonlítva, a következőket mondhatjuk. A termet és a testsúly az általunk mért mintában sok esetben nagyobb, mint a hazai szerzők utóbbi éveit képviselő közlésekkel, a következőket mondhatjuk. A termet és a testsúly az általunk mért mintában sok esetben nagyobb, mint a hazai szerzők által közölt értékek [11, 12, 51, 52]. Találunk azonban olyan eredményeket is, amelyekkel adataink többsége megegyezik [2, 21]. A termet 1–2 cm-es, vagy a testsúly 1–2 kg-os különbségei (mint ahogy az vizsgálatainkból látható volt) másutt sem ritkák. Pl. a Budapesti Műszaki Egyetemen, ahol a testmagasság semmilyen kapcsolatba sem hozható a választott hivatással, ennél nagyobb eltérések is tapasztalhatók az egymást követő évfolyamok termetében. A termet és a testsúly különbségeit tehát hiba lenne csak a sporttevékenységgel magyarázni, jóllehet a sportoló csoportok többségében e két mutató lényegesen nagyobb, mint a felvételi vizsgán megjelent fiatal felnőttek értékei [12, 20, 31].

A Testnevelési Főiskolára jelentkezők csoportjai a választott hivatás és a pályaválasztással kapcsolatos életmód következtében a sportolókhöz hasonlíthatók ugyan, de más szempontok figyelembevétele miatt velük nem azonosíthatók. Az antropometriai adatok többsége alapján a fiatal felnőttek csoportjaihoz állnak közelebb, mivel lényegesen kisebb különbségeket kaptunk az ilyen összehasonlítás során, mint a versenyzők testméreteihez viszonyítva.

Kérdés most már, hogy ha vizsgálataink nem hasonlíthatók minden további nélkül a versenyzőkhöz, viszont a 18–19 éveseknek és a felsőoktatási intézmények hallgatóinak jellemzőitől egy-egy méretben eltérnek, akkor önálló csoportként kezelendők-e, vagy valamilyen gondolatmenet alapján mégis az egyik vagy másik csoport részét képezik. A sportfiziológia területén egyre több eredmény utal arra, hogy az emberi szervezet optimális működési szintje elsősorban az edzetteken, nem pedig a kevésbé aktív, de még az egészséges átlagot jelentő emberek mutatóiban ismerhető fel. A versenysport képviselői és az átlagpopuláció között helyet foglaló vizsgálati csoportjaink edzetlennek semmiképpen nem mondhatók, edzettségi, aktivitási szintjük jobb, mint a lakosság hasonló korú képviselőié. Még ha eddigi iskolai éveik alatt sportoltak is, ez csupán a kezdeti lépéseket jelentette valamilyen sportág felkészítési rendszerében. Intenzív általános fizikai igénybevétel többségüknél a felvételi vizsgára



történő előkészület időszakára korlátozódott. Nehéz eldönteni, milyen és mekkora hatással lehet a funkciók területén kimutatott, időleges működési optimum a többségében öröklött tényezők által meghatározott morfológiai jegyek együttesére. Bizonyos esetekben ez belátható, pl. az izomtömeg mennyiségének és összetételének alakulásában, vagy a test teljes zsírtartalmának változásában. Más antropometriai jelleg vagy tulajdonságegyüttes és a fizikai aktivitás kapcsolatáról csak azt tudjuk, hogy a rendszeresen adagolt edzéshatásoknak nincs a fejlődés, a növekedés szempontjából kedvezőtlen hatása. A különbségek nem elhanyagolható része tehát inkább az örökletes és szelekciós szempontok felé tereli a figyelmünket, a különbségek kicsinysege viszont ellene szól annak, hogy vizsgálatainkat különálló, a versenyzőktől és az átlaglakosságtól egyaránt elkülönülő csoportnak gondoljuk. Így a legelfogadhatóbb következtetésnek azt tekintjük, hogy csupán sajátos réteget jelentik az átlaglakosságnak, annak részét képezik. Sajátosságukat éppen a fizikai aktivitás iránti affinitásnak, a sport és a testnevelés különböző formáihoz vonzódásuk és ennek életmódbeli következményei jelentik.

Ilyen értelemben a Testnevelési Főiskolára jelentkezők testméreteinek átlagértékeit elfogadhatjuk az egészséges fiatal felnőttek esetében *kívánatos* értékeknek, főleg ami a mozgatórendszeri fejlettségüket illeti.

A nemzedéki változásokkal kapcsolatosan leírt testlinearitás (gracilitás) fokozódás [56] több olyan tényezőre hívja fel a figyelmet, melyeket eredményeinkkel kapcsolatosan is értékelnünk kell. A termet és a mellkasméreték egymáshoz viszonyított arányának az idő múlásával kapcsolatos megváltozása a metrikus index-koordináták beosztásának az ellenőrzését indokolhatja, sőt felvetheti, nem volna-e szükséges a koordináta tengelyek újraszkalázása. Az eredmények fejezetben ismertetett „kissé fokozott leptomorfia” az eredeti (CONRAD féle) kb. 20—25 évvel ezelőtti állapotra vonatkozó beosztáshoz viszonyítva érvényes.

Napjaink fiatal felnőtt lakosságának többségét feltehetően a vizsgálatainkban szereplő minta által elfoglalt pozíció jellemzi. Igaz, az újraszkalázás segítségével valóban a koordináta rendszer középpontjába hozhatnánk a fiatal egészséges felnőtt lakosság többségét jellemző indexpárt, de felmerül a kérdés, hogy van-e értelme, vagy jelentősége az eredeti állapot napjainkra is érvényes transzformációjának. Többirányú mérlegelés után elejtettük a transzformáció (újrastandardizálás) gondolatát. A változatlan formában való alkalmazás esetén ugyanis hosszabb idő távlatában is képet kaphatunk arról, hogy az arány- és méretváltozások következtében hogyan módosultak az alkatnak, illetve a testszerkezetnek azok a mutatói, amelyeket a metrikus index jellemez. Így módunk van a nemzedéki változások ilyen irányú vetületét is vizsgálni, míg az időszakos korrekciók ettől a lehetőségtől megfosztanak.

### Összefoglalás

Az 1970-es évek közepén Budapest különböző iskoláiban tanuló 6—16 éves fiúk és lányok, valamint a Testnevelési Főiskolára 1972—1978 között jelentkezett 18—19 éves fiatal felnőttek testalkati vizsgálatát végeztük el. Munkánk során az általános iskolásokat és a serdülőket, valamint a fiatal felnőtteket alkatilag és alakilag kívántuk jellemezni. Ezen túlmenően a vizsgált testméretek növekedésének a ritmusát és a testmagassághoz viszonyított jellem-



zők változását is életkoronként és nemenként elemeztük. Kilenc testméret — testmagasság, testsúly, mellkasszélesség, mellkasmélység, vállszélesség, alkarkerület, kézkerület, könyökszélesség, térdszélesség — növekedését, illetve helyzetét vettük figyelembe. A testméretek egy részéből CONRAD eljárása alapján kiszámoltuk a metrikus és plasztikus indexeket, amelyek a növekedési típus jellemzésére szolgálnak.

1. A lányok növekedésében az indexek és a testméretek változásainak együttes értelmezése alapján három periódus különíthető el (6—10, 11—14, 15—19 éves kor), a fiúknál négy (6—9, 10—13, 14—16, 18—19). A lányok testarányai 10 éves kortól kezdve közelednek a felnőtteket jellemző értékekhez, amelyeket 15 éves korra érnek el. A továbbiakban a női testarányok lényegesen nem változnak. A fiúknál a testarányok korosztályi változása domború ívvel közelíthető. A fiúk arányai 16 éves korban még különböznek a fiatal felnőtteket jellemző testarányoktól.

2. A testméretek lökészerű növekedése nemenként és testméretenként más időpontban jelentkezik. A növekedési lökés kezdete a lányoknál általában a 10 éves korra tehető. A mellkas méreteinek változása náluk két csúccsal jellemezhető. A fiúknál a méretek többségében két intenzív növekedési periódus jelölhető ki. Az első a serdülés előtt, a második a serdülés alatt veszi kezdetét.

3. A relatív méretek többsége kisgyermekkorban is és felnőtt korban is nagyobb, mint a közbeeső életkorokban. A relatív testsúly évről-évre nő, a relatív térdszélesség évről-évre csökken mindkét nemből.

4. A fizikailag aktív fiatal felnőttek testméreteinek regresszió-analízise alapján a testméretek többségében nem mutatható ki változás vagy meghatározott irányultság, kisebb részében viszont lineáris növekvő tendencia bizonyítható.

5. Az alkat és alak tulajdonságainak megítélésében használt módszerek kritikai elemzése tapasztalataink szerint megfelelőbb megvilágításba képes helyezni a velük nyert eredményeket, megkönnyíti a tájékozódást és segít az alkattal és változásaival kapcsolatos koncepciók helyesebb elméleti megalapozásában.

## IRODALOM

1. ARDAY, L. (1972) Ifjúságunk testalkatának módosulásáról aggódva. *Valóság*, 8, 62—69.
2. ARDAY, L. (1976) A Budapesti Műszaki Egyetem elsőéves hallgatóinak összehasonlító antropometriai vizsgálata. In: PULAI, F. (ed.): *Nemzetközi jubileumi testnevelési tudományos ülésszak*. BME Soksorozító Üzeme, Budapest, 205—228.
3. BARACS, F. and FARMOSI, I. (1976) Főiskolai hallgatók testalkata. In: PULAI, F. (ed.): *Nemzetközi jubileumi testnevelési tudományos ülésszak*. BME Soksorozító Üzeme, Budapest, 197—201.
4. BEUNEN, G. (1973—1974) Somatotype and skeletal maturity in boys 12 through 14. *Hermes* (Leuven), 8, 411—422.
5. BODZSÁR, É. (1975) A testi fejlettség és a menarche a székesfehérvári lányoknál. *Anthrop. Közl.*, 19, 79—85.
6. BOOKWALTER, K. W. (1952) Relationship of body size and shape to physical performance. *Res. Quart.*, 23, 71—75.
7. BUGYI, B. (1975) A könyökizület egyes csontmagvainak röntgenfelvételen értékelhető fejlődéséről. *Anthrop. Közl.*, 19, 87—89.
8. CONRAD, K. (1963) *Der Konstitutionstypus*. 2. Aufl. Springer, Berlin.
9. DEZSŐ, Gy. (1959) Növekedési vizsgálatok Budapest IX. kerületi 7—8 éves tanulóifjúságán. *Anthrop. Közl.*, 3, 99—100.



10. EIBEN, O. G. (1965) Főiskolás nők szomatometriai és dinamometriai vizsgálata. *Testnevelési és Sportegészségügyi Szemle*, **6**, 95—101.
11. EIBEN, O. G., HEGEDÜS, GY., BÁNHEGYI, M., KISS, K., MONDA, K. and TASNÁDI, I. (1971) Budapesti óvodások és iskolások testi fejlettsége (1968—1969). Fővárosi KÖJÁL, Budapest.
12. EIBEN, O. G. (1972) The Physique of woman athletes. TTT, Budapest.
13. EIBEN, O. G. (1975) A humerus és a femur condylus-szélességének életkori változásai egy nyugatmagyarországi gyermekpopulációban. *Anthrop. Közl.*, **19**, 91—96.
14. EIBEN, O. G. (1977) Changes in motor activity and mode of life-expected changes in the human organism. *Metody Kontroli Rozvoju Czlowieka i Zmain Struktury Populojy Ludzkich*, Osseleum, 207—221.
15. EIBEN, O. G. (1977) Hungarian investigations concerning growth and development and the variation of physique. In: EIBEN, O. G. (ed.): *Growth and Development; Physique*. Akadémiai Kiadó, Budapest, 11—19.
16. FARKAS, GY. (1975) A gyomai gyerekek testi fejlettsége és nemi érése. *Anthrop. Közl.*, **19**, 97—104.
17. FARMOSI, I. (1972) Főiskolai hallgatók atropometriai és dinamometriai vizsgálata. *Testneveléstudomány*, **3**, 85—96.
18. FARMOSI, I. (1975) Physique and athletic jumps. In: EIBEN, O. G. (ed.): *Humanbiologia Budapestiensis*. Budapest, N° 2.
19. FARMOSI, I. (1975) Adatok a 15—18 éves kaposvári fiúk testi fejlettségéhez. *Anthrop. Közl.*, **19**, 105—109.
20. FARMOSI, I. (1976) Főiskolai hallgatók testösszetétele és szomatotípusa. In: PULAI, F. (ed.): *Nemzetközi jubileumi testnevelési tudományos ülésszak*. BME Sokszorosító Üzeme, Budapest, 187—197.
21. FRENKL, R. and MÉSZÁROS, J. (1978) Orvostanhallgatók és testnevelési főiskolások négy éves testalkati és terhelési keringési vizsgálatának tapasztalatai. A XIII. Biol. Vándorgyűlés Előadásainak Ismertetése, MTESZ, Budapest, 38.
22. GERVEN, D. V. (1973—74) The relationship between build and the results of physical performance test in male preadolescents and adolescents. *Hermes (Leuven)*, **3**, 423—433.
23. GYENIS, GY. (1975) Az „akceleráció” és a civilizációs ártalmak. *Anthrop. Közl.*, **19**, 129—131.
24. GYENIS, GY. and TILL, G. (1978) Az egyetemi hallgatók testi fejlettségére ható társadalmi-gazdasági tényezők. A XIII. Biol. Vándorgyűlés Előadásainak Ismertetése. MTESZ, Budapest, 38.
25. HAJTMAN, B. (1971) *Bevezetés a matematikai statisztikába pszichológusok számára*. Akadémiai Kiadó, Budapest.
26. HEBBELINCK, M. and Vajda, A. S. (1977) Secular growth trend data in Belgian populations since 1840 — a dimensional and proportional analysis. In: EIBEN, O. G. (ed.): *Growth and Development; Physique*. Akadémiai Kiadó, Budapest, 97—107.
27. KÁDÁR, P. and VÉLI, GY. (1973) A 18—20 éves férfi lakosság testi fejlettsége. *Anthrop. Közl.*, **17**, 97—112.
28. KÁDÁR, P. (1975) Az akceleráció időnkénti remissiójának okairól. *Anthrop. Közl.*, **19**, 151—156.
29. LASKA, T. and MIERZEJEWSKA, H. (1974) Praca fiziona jako jeden z czynnikow opozniajacych wiek menarchy. *Wych. Fiz. i Sport.* (Warsawa), **2**, 99—102.
30. MALINA, R. M. (1975) Anthropometric correlates of strenght and motor performance. *Exercise and Sport Sciences Reviews*, **3**, 249—258.
31. MÉSZÁROS, J. and THANH, T. H. (1976) A Testnevelési Főiskolára jelentkezett atléták testalkati vizsgálatának tapasztalatai. *Közlemények a Testnevelési és Sporttudományok Köréből*, **1**, 153—167.
32. MÉSZÁROS, J. (1977) A testalkat és cardiorespiratoricus terhelhetőség vizsgálata a Testnevelési Főiskolára 1972—1976 között jelentkezőknél. A MÉT 43. Vándorgyűlésének előadáskivonatai, Pécs, 299.
33. MÉSZÁROS, J. and SZMODIS, I. (1977) Indices of physique and motor performance in pupils attending scholls with a special physical education curriculum. In: EIBEN, O. G. (ed.): *Growth and Development; Physique*. Akadémiai Kiadó, Budapest, 253—261.
34. MÉSZÁROS, J. and MOHÁCSI, J. (1978) A gyermekek és serdülőkorúak fejlődésének összefüggései az iskolai testneveléssel. Rektori pályázat. Kézirat. Magyar Testnevelési Főiskola, Budapest.
35. MÉSZÁROS, J. and MOHÁCSI, J. (1978) Testnevelési és nem testnevelési osztályba járó tanulók alkatának és fizikai teljesítményének vizsgálata. Tanulmányok a Testnevelés- és Sporttudományok Köréből. Magyar Testnevelési Főiskola, Budapest, 129—151.



36. NEMESKÉRI, J. (1970) Az 1966. évben egyetemi (főiskolai) felvételre jelentkezettek demográfiai és testfejlettségi vizsgálata. A KSH Népegészségtudományi Intézetének Közleményei. Statisztikai Kiadó, Budapest.
37. NEUMANN, O. (1962) *Sport und Akzeleration*. Festschrift — Carl Diem. Limpert, Frankfurt—Main, 144—153.
38. NIKITYUK, B. A. (1975) A fejlődési akceleráció okainak magyarázata az örökletes és környezeti faktorok figyelembevételével. *Anthrop. Közl.*, **19**, 169—177.
39. ONAT, T. (1977) The influence of genetical and environmental factors on the female adult height. In: EIBEN, O. G. (ed.): *Growth and Development; Physique*. Akadémiai Kiadó, Budapest, 43—49.
40. PARIZKOVÁ, J. (1975) Changes in body composition and functional development during puberty. *Anthrop. Közl.*, **19**, 185—194.
41. RAJKAI, T. (1952) A debreceni egyetemi hallgatók antropológiai vizsgálata az 1951. évben. *Ann. Biol. Universitatum Hung.*, **2**, 263—277.
42. RAJKAI, I. and JANCsó, J. (1955) A rendszeres testnevelés hatása az I—II. éves egyetemi hallgatóknál az 1952/53. és 1953/54. tanévben. *Testneveléstudomány*, **2**, 129—146.
43. RAJKAI, T. (1957) A debreceni egyetemi hallgatók antropometriai adatai. *Acta Univ. Debrecen*, **4**, 257—265.
44. SÄLZLER, A. (1975) Die Akzeleration — ein gesellschaftlich und biologisch gesteigerter Prozess. *Anthrop. Közl.*, **19**, 195—200.
45. STEPNIÓKA, J. (1967) Somatotyp a vysledky nekterich motorických testu v vroschovolich sportovcu a u průmernich cvieencu. *Teorie a Praxe Telesne Vychovy*, **15**, 744—750.
46. STRÖMGREN, E. (1937) Über anthropometrischen Indices zur Unterscheidung von Körperbautypen. *Zbl. f. ges. Neurol. und Psychiatrie*, **159**, 75—81.
47. STROUP, F., HARRIS, A. and McCORMICK, J. (1967) Anthropometric measurements and swimming performance. *Swimming Technique*, **1**, 13—15.
48. SZMODIS, I., MÉSZÁROS, J. and SZABÓ, T. (1976) Alkati és működési mutatók kapcsolata gyermek-, serdülő- és ifjúkorban. *Testnevelés- és Sportegészségügyi Szemle*, **17**, 255—272.
49. SZMODIS, I. (1977) Physique and growth estimated by CONRAD's and HEATH—CARTER's somatocharts in athletic children In: EIBEN, O. G. (ed.): *Growth and Development; Physique*. Akadémiai Kiadó, Budapest, 407—416.
50. SZÖLLŐSI, E. and JÓKAY, M. (1978) Iskolás tanulók fejlődése Debrecenben. *Egészségtudomány*, **22**, 85—94.
51. TILL, G. and GYENIS, GY. (1975) A Budapesti Műszaki Egyetem hallgatóinak testi fejlettsége. A BME Szakorvosi Rendelőintézet Jubileumi Évkönyve, BME, Budapest, 105—112.
52. TITTEL, K. and WUTSCHERK, H. (1972) *Sportanthropometrie*. Johann Ambrosius Barth, Leipzig.
53. VIOLA, I. M. (1952) *Fejldési tábla*. Budapest Város Tanácsának Iskolaegészségügyi Szolgálat, Budapest.
54. WAHLSTAB, S. and DÓKA, J. (1970) Serdülőkorú atléták csontéletkorának jelentőségéről. *Testnevelési Főiskola Tudományos Közleményei*, **4**, 287—290.
55. WEINER, J. S. and LOURIE, J. A. (1969) *Human Biology. A Guide to Field Methods*. IBP Handbook 9, Blackwell, Oxford.
56. WOLANSKI, N. (1978) Secular trend in man: evidence and factors. *Coll. Anthropol. UCD*, **2**, 69—86.

PROBLEMS POSED BY A CROSS-SECTIONAL STUDY  
OF THE SEVENTIES CONCERNING SECULAR TREND AND CHILD DEVELOPMENT

Mészáros, J., \* Szmodis, I., Mohácsi, J. and Frenkl, R.

Department of Medicine, Hungarian University of Physical Education, Budapest, and  
Research Group, Central School of Sports, Budapest, Hungary

A constitutional study was done in the middle of the '70s, which referred to girls and boys between 6 and 16 years and attending various schools in Budapest, and to young adults of 18 to 19 years who applied for admission to the Hungarian School of Physical Education in the years 1972—1978. The purpose of the study was to describe the constitution and shape of school children and adolescents as well as of young adults. In addition, the body dimensions under study as well as height-related measures were analyzed to obtain growth trends and



rhythms of growth for both sexes and every age. Status of, and changes in nine dimensions were considered. These were: height, weight, chest width and depth, biacromial distance, lower arm and hand girth, humeral and femoral bicondylar diameters. Of some of the dimensions metric and plastic indices were calculated by CONRAD's method, which characterize growth type.

— Within the growth trend of girls three periods could be discerned by using the indices and dimensional changes as a common basis of interpretation, namely ones between 6 and 10, 11 and 14 respectively 15 and 19 years of age. In the boys there were four of such periods (6 to 9, 10 to 13, 14 to 16, and 18 to 19). In girls body proportions begin to approach adult ones from on the 10th year of age to reach them by the age of 15. After this age—female body proportions are essentially the same. In boys the age-dependent change of proportions can be approximated by an upward convex curve. By the age of 16 boys still differ in their body proportions from the adult ones.

— The times of spurts in growth vary according to sex and dimension. Overall growth spurt sets in generally by the age of 10 in girls. Chest dimensions follow a bimodal curve. In boys there are two intense periods of growth in the majority of dimensions. The first one begins before puberty, the second appears during puberty.

— Most of the height-related dimensions are larger in the child and in the adult than in the period in-between. Relative weight consistently grows, relative knee width consistently decreases with progressing age in both sexes.

— When body dimensions were analyzed as a function of the successive years of sampling of physically active young adults, most of the dimensions lacked any definite trend while a smaller part of them showed a linearly increasing tendency.

## ADATOK A PATKÁNY HIPOFÍZIS ONTOGENEZISÉHEZ: TÉNYEK ÉS ELMÉLETEK

RAPPAY GYÖRGY és BUKULYA BÉLA  
MTA Kísérleti Orvostudományi Kutató Intézet, Budapest

Beérkezett: 1980. november 23-án

*Kulcsszavak:* patkány, hipofízis, ontogenezis, sejtszaporodás, sejtmegeújulási hipotézisek

Kézikönyvek szerint [4, 13] gerincesekben az agyalapi mirigy két elkülönült primordiumból fejlődik; mindkettő az ektodermából származik. A hátsó lebenynek a telepe a diencephalonnak azon részéből alakul ki, amelyből a hipotalamusz fejlődik. A hátsó lebeny fejlődésmenetének korábban leírt részletei újvizsgáltra nem kerültek. A vélemények nem ütköztek össze. A hátsó lebeny vitathatatlannal a neuroektoderma származéka.

Annál inkább említésre méltó az elülső és a középső lebeny — az adenohipofízis — telepének kialakulása körül felmerült ismeretanyag. BALLARD [1] szerint az általános kültakaró, az agy, a gerincvelő, az agyi és a gerincvelői idegek és az érzékszervek az ektoderma fő származékai. Miután — főleg madarakban és kétélűekben — a korai embrionális életben a velőlemez velőcsővé alakult át, a feji ektodermán megvastagodások — placode-ok — keletkeznek. Ezek sejtjei koordinált mozgással a mélybe vándorolnak. A fő placode-ok hozzák létre a páratlan hipofízist, valamint a páros szagló, halló és látószerveket. A hipofízis telepe először a későbbi száj-terület feji határán az ektoderma megvastagodásaként (hipofízis-placode) tűnik elő. A placode sejtjei beférkőznek a prekorális lemez és az előagy közé; itt kapcsolatba lépnek a diencephalon infundibulum szakaszával. Amikor a fejhajlat kialakult, mind a hipofízis, mind az infundibulum befelé, a korda csúcsa felé, csúszik. Ezáltal a hipofízis hámnak a szülő ektodermájával való kapcsolata megszűnik és a hipofízis telepe — új helyén — együttműködik az infundibulummal a komplex agyalapi mirigy kialakításában.

A korszerű kézikönyvekben nem vitatják azt a tényt, hogy a hipofízis egyetlen csíralemez származéka. Csak FERRAND és HRAOUI [2] szárnyasokon végzett transzplantációs kísérletei óta tudjuk biztosan, hogy az entodermális SESSEL-tasak nem vesz részt az adenohipofízis képzésében. A hipofízis tehát az ektoderma származéka és az adenohipofízis jóval a RATHKE-tasak megjelenése előtt, mint a velőléc (neural crest) feji végének egy szakasza, predeterminált placode formájában jelenik meg. A velőlécbeli eredet azonban ma még vita tárgya [6].

A velőléc a velőcső záródása közben kialakuló hosszanti struktúra. Pluripotens sejteket tartalmaz, amelyek nagy távolságokba képesek vándorolni [15]. A peptideket termelő belsőelválasztású mirigyek fejlődésmenetében, szövettanában és biokémiájában mutatkozó hasonlóságok, ezen mirigyek multiplex endokrin daganatainak gyakori előfordulása azt a feltételezést engedi meg [14], hogy az ekto- és entodermiális belsőelválasztású mirigyek közös-sejtek révén rokonságban vannak. Ezek az őssejtek valószínűleg a neuroektoderma származékai, amelyek különféle szövetekbe — a hipofízisbe, a pajzs-



mirigybe, a mellékpajzsmirigybe, a hasnyálmirigy LANGERHANS-szigeteibe, az ultimobranchialis szervbe, a thymusba — vándorolnak, és bennük telepeket alkotnak; más velőlécbeli sejtek kialakítják a kromaffin rendszert, az autonóm idegrendszer ganglionjait, a kemoreceptor rendszert és jelen vannak a hipotalamusban is ahátsó lebenyben felszabaduló hormonokat termelő struktúrákban.

A hipofízis telepében a fejlődés legkorábbi szakaszában jelenlevő blasztesztek olyan morfológiai bélyegeiről, amelyekről ezen sejtek endokrin elkötelezettségére következtetni lehetne, még elképzelésünk sincs. A hipofízis-placode hámsejtjeinek és a velük majd keveredő velőléc-beli sejteknek a jellegzetességeire, ami esetleg megkülönböztetheti azokat a környezetük hasonló sejtjeitől, BALLARD [1] munkájában sem találtunk utalást. Valójában csak a РАТНКЕ-tasak kialakulását követő periódustól kezdve ismerjük a tasak sejtjeinek morfológiáját [12].

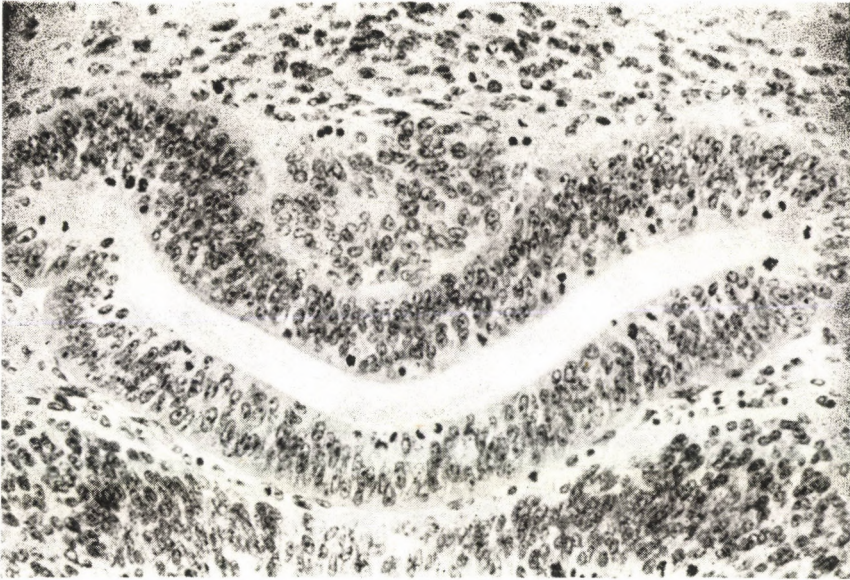
Saját kísérleteinkben a patkány embrió hipofízis telepét az embrionális élet 13. napján kezdtük vizsgálni. Ebben a fejlődési szakaszban a РАТНКЕ-tasak már lefűződött. A primitív elülső és középső lebeny három-öt sejtsorból álló, egymásba folyamatosan átmenő, a primitív hipofizeális üreget körülfogó viszonylag nagy képlet, amelyhez a diencephalon processus infundibularisának ekkor még differenciálatlan sejthalmaza simul, többé kevésbé indentálva a középső lebeny centrális területét, a primitív neurohipofízist alkotva (1. kép). Mindhárom primitív lebeny sejtjei szorosan egymáshoz simulva, lényegében erek és intercelluláris állomány nélkül, tömött szövetet alkotnak, lazább mezenchimális elemektől körülvéve. Elektronmikroszkópos metszetekben a telep sejtjei „jellegtelenek”: az elongált sejttest viszonylag nagy, heterokromatinban szegény magot hordoz. A citoplazma nagy mitokondriumokat, gyakran rozettákban rendeződött riboszómákat tartalmaz, de az export fehérje termelés semmiféle jele nem fedezhető fel a szorosan egymáshoz simuló sejtekben (2. kép).

Egy nappal később — a 14 napos patkány embrió *elülső lebeny telepében* — lényegesen megváltozik a helyzet. A telepből megjelennek — nem nagy számban — olyan sejtek, amelyeknek a citoplazmájában szekréciós szemcsék vannak (3. kép). Ezek a szekréciós szemcsék aprók, főleg a sejttest periferiáján helyezkednek el. Az ilyen sejtek lényegében egyetlen olyan sejtre sem hasonlíthatnak, amelyeket felnőtt állat hipofízisében találtunk.

A 15 napos patkány embrió hipofízis telepe lényegében ugyanazokat az elemeket tartalmazza, mint korábban, de a későbbi arányok jobban szembetűnnek. Az elülső lebeny adenoid szövete kezd kialakulni, a középső lebeny térfogathátrányba kerül az elülsőhöz képest, a neurohipofízis laza szerkezete szembetűnő (4. kép). A szekréciós szemcséket tartalmazó sejtek részaránya nagyobb, de abszolút számuk nem adható meg. Az aprószemcsés sejtek citoplazmájában az endokrin elkötelezettség jelei megtalálhatók, a Golgi-zónában való szemcséképződés biztos jeleivel (5. kép).

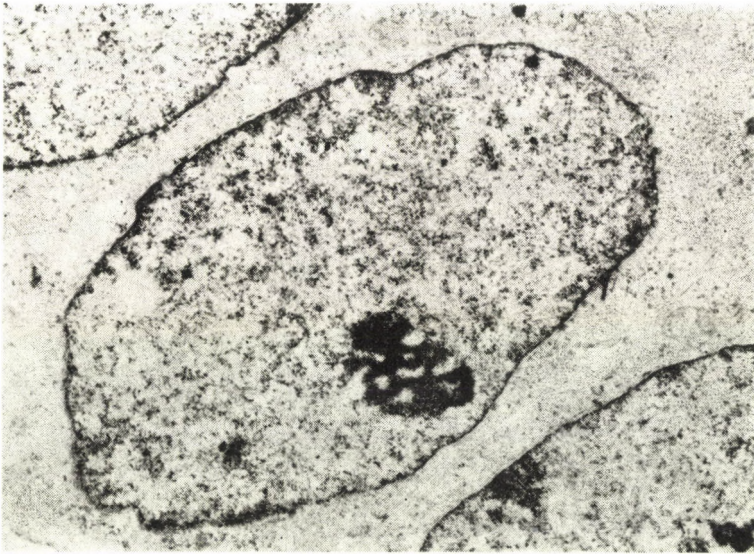
A 17 napos (6. kép) és az ennél idősebb patkány embriók hipofízis telepe már minden részletében emlékeztet a differenciálódott mirigy durva szerkezetére. A szemcsés sejtek aránya nagyobb, mint a fiatal magzatokban (7. kép). A szemcseméreték megoszlása alapján azonban csak a 21 napos embrió elülső lebenyében (8. kép) lehet jól megítélni a különféle sejtvonalakhoz tartozó sejtek jelenlétét. Így a differenciálódás folyamatának felgyorsulása következtében közvetlenül a születés előtti periódusban a felnőtthez viszonyítva csak kvantitatív különbség mutatkozik az export fehérje termelő képesség kifejeződésében:





1. kép A 13 napos patkány embrió hipofízis telepe; hematoxilin-eozin festés.  
270x.

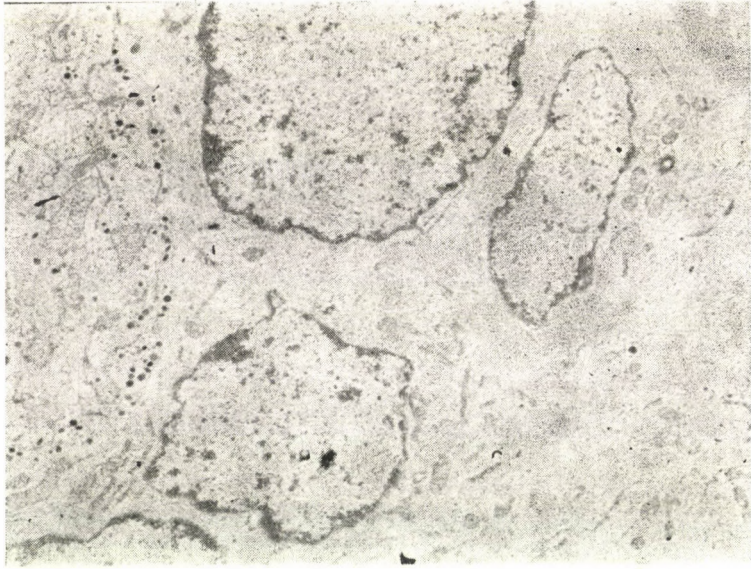
Plate 1. Rudiment of the hypophysis derived from a 13-day-old rat embryo.  
Stained with hematoxylin-eosin.



2. kép A 13 napos patkány embrióban a primitív elülső lebeny sejtei endokrin  
elkötelezettséget nem mutatnak. Alapnagytás: 8 500x.

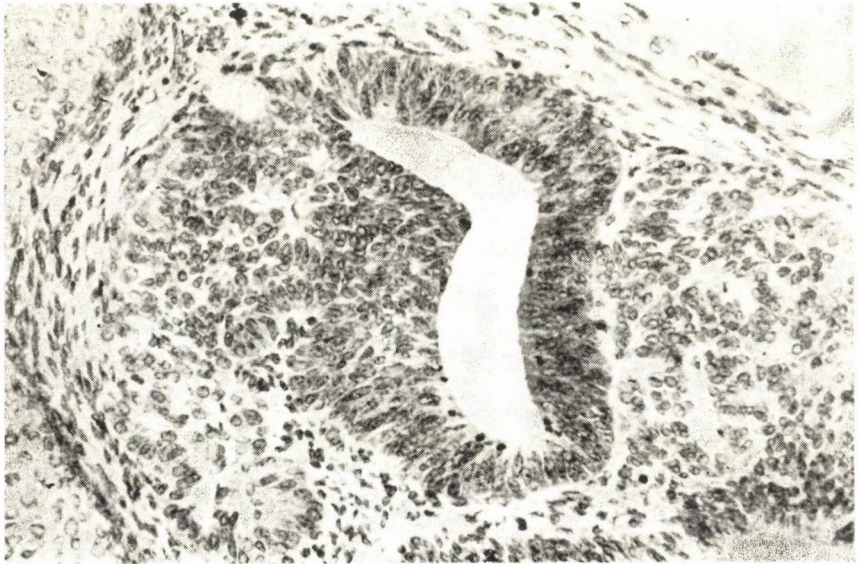
Plate 2. Uncommitted cells of the primitive hypophyseal anlage derived from  
a 13-day-old rat embryo.





3. kép A 14 napos patkány embrióban a primitív elülső lebeny némely sejtjében apró szekréciós szemcsék random megoszlásban találhatóak a citoplazmában. Alapnagytás: 4 150 x.

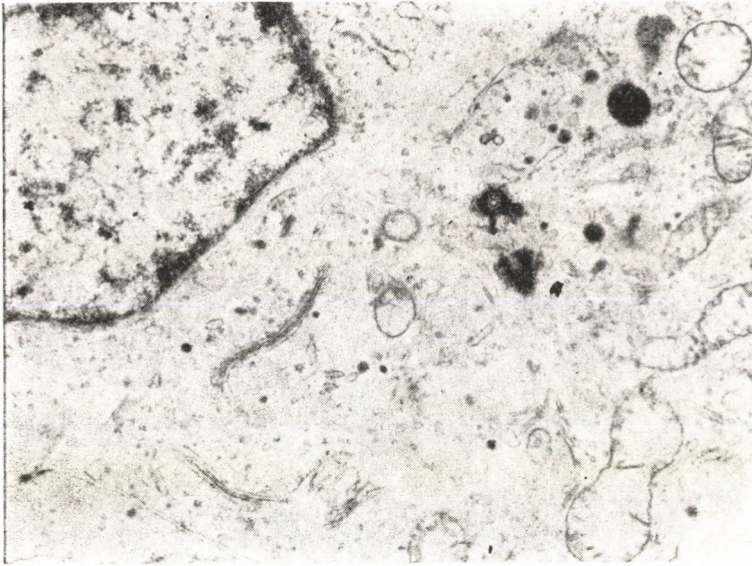
Plate 3. Small secretory granules are randomly distributed in the cytoplasm of a few primitive cells derived from a 14-day-old rat embryo.



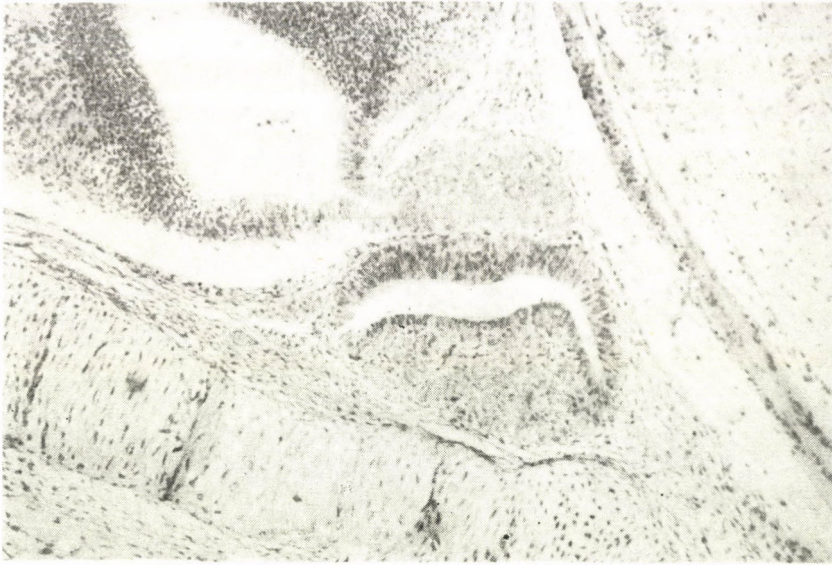
4. kép A 15 napos patkány embrió hipofízis telepe; hematoxilin-eozin festés  
A primitív elülső lebeny adenoid szövete kezd kialakulni. Az elülső és középső lebeny áthajlási redője folytonos. Alapnagytás: 250 x.

Plate 4. Rudiment of the hypophysis derived from a 15-day-old rat embryo. Stained with hematoxylin-eosin. Differentiation of the adenoid tissue is seen in the primitive anterior lobe. Note continuity between the anterior and intermediate lobes.



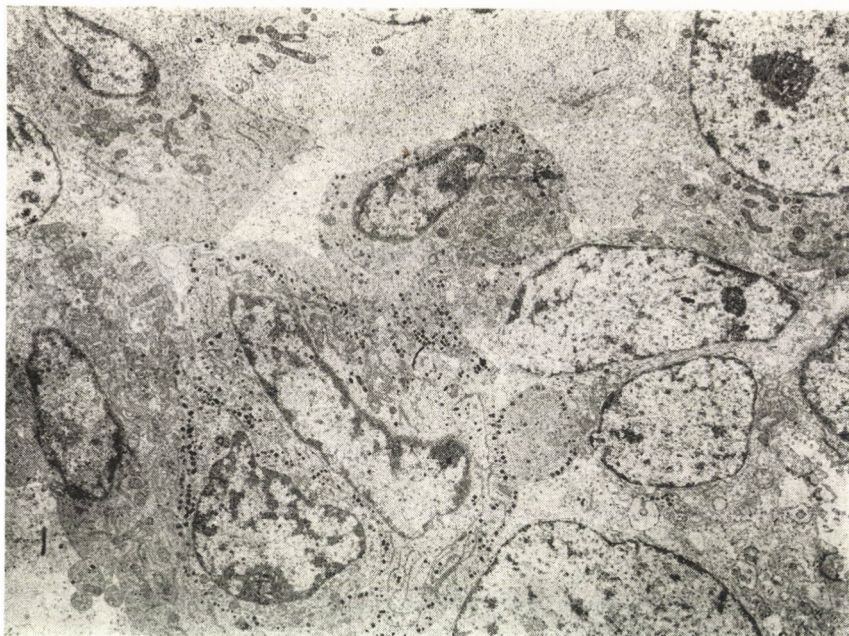


5. kép A 15 napos patkány embrió primitív elülső lebenyében az aprószemcsés parenchima sejtkben a szemcséképződés biztos jelei látszanak a fejlett Golgi területén. Alapnagytás: 9 800 x.  
 Plate 5. Characteristic signs of granule formation are seen in the well-developed Golgi region of a parenchymal cell in the primitive anterior lobe derived from a 15-day-old rat embryo.



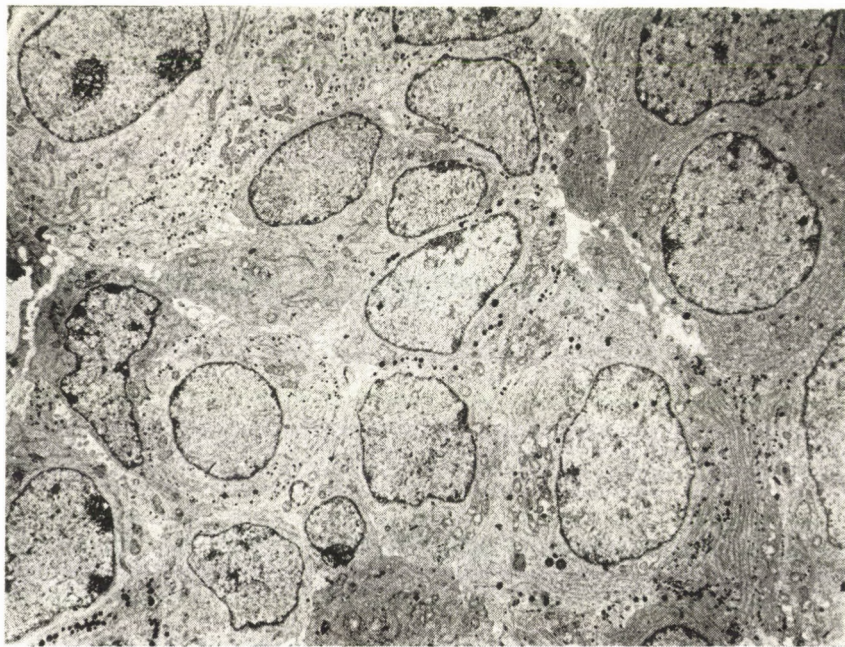
6. kép 17 napos patkány embrió hipofízis telepe; hematoxilin-eozin festés. A hipofízis lebenyei a későbbi arányoknak megfelelően fejlődnek, beleértve a pars rostralis-t és a hipofízis-nyelet is. Az elülső lebeny adenoid szövete már jól szemebetűnő. Alapnagytás: 120 x.  
 Plate 6. Rudiment of the hypophysis derived from a 17-day-old rat embryo. Stained with hematoxylin-eosin. This developmental stage of the hypophyseal lobes as well as the rostral zone and the stalk reminds their final proportions. Adenoid tissue is well-developed in the anterior lobe.





7. kép 18 napos patkány embrió hipofízis elülső lebenyének gyenge nagyítású képe. A szekréciónak tartalmazó elkötelezett sejtek aránya nagyobb, mint korábban. Egyes sejtekben a szemcsésűrűség tekintélyes. Némelyik sejtmag heterokromatinban gazdagabb, mint a korábbi fejlődési szakaszokban. Alapnagyítás: 2300 x.

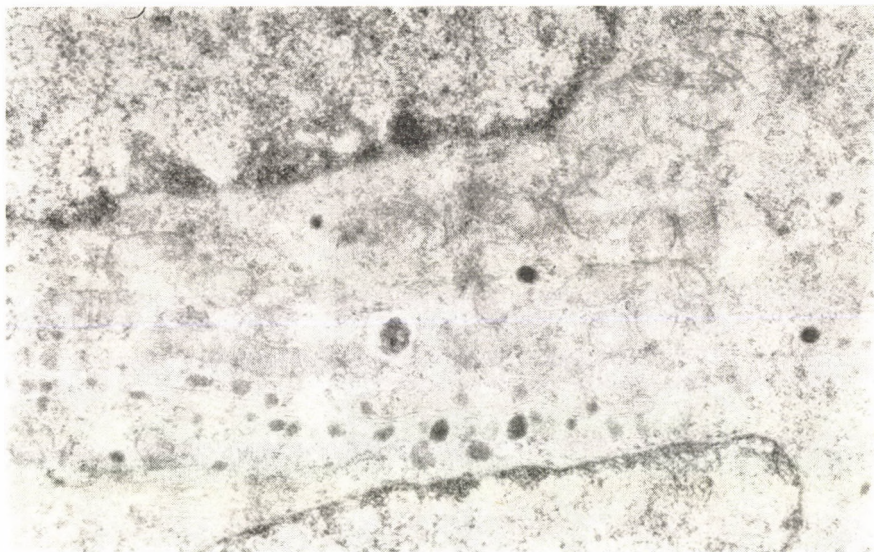
*Plate 7.* Low power electron micrograph of the hypophyseal anterior lobe derived from an 18-day-old rat embryo. The incidence of committed cells with secretory granules is higher than earlier. The density of granules in some cells is considerable. Nuclear heterochromatin of some cells is more prominent than it used to be in earlier stages of differentiation.



8. kép 21 napos patkány embrió hipofízis elülső lebenyének gyenge nagyítású képe. A szekréciónak tartalmazó sejtek számaránya megközelíti vagy eléri a felnőttben megismert arányokat. Az egyes sejtekben azonban a szemcseszám sok esetben messze alulmarad a felnőtt hipofízisében látottakhoz képest. Alapnagyítás: 1700 x.

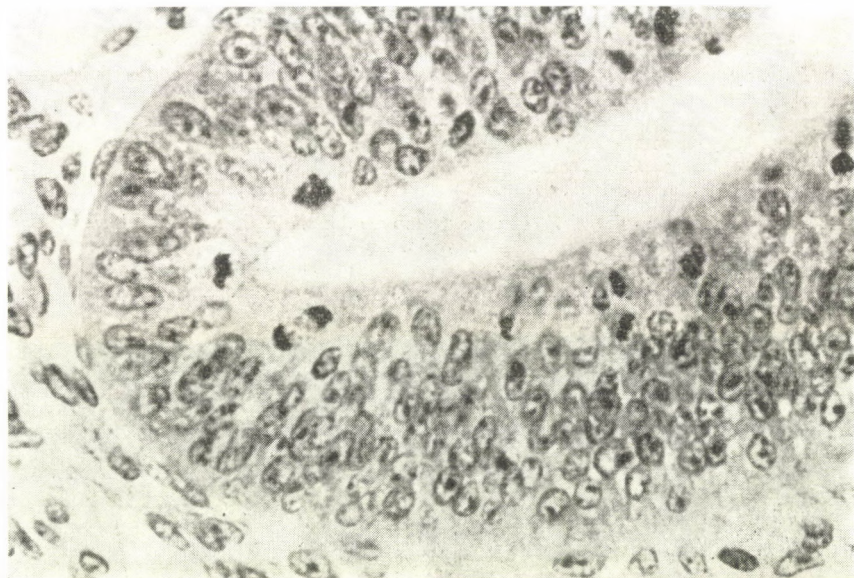
*Plate 8.* Low power electron micrograph of the hypophyseal anterior lobe derived from a 21-day-old rat embryo. The proportion of cells containing secretory granules is nearly the same as in adults. On the other hand, the number of granules within the individual cells is far less than in the adult pituitary.





9. kép 18 napos patkány embrió hipofízis középső lebenyéből származó sejtek képe. A pleomorf szekréciós szemcséket tartalmazó sejtek egyikében a szemese elrendeződés membránközeli. Alapnagytítás: 10000 x.

Plate 9. Electron micrograph from the intermediate lobe of an 18-day-old rat embryo. The granules are arranged along the cell membrane at the periphery of the cytoplasm in one of the cells containing pleomorphic secretory granules.

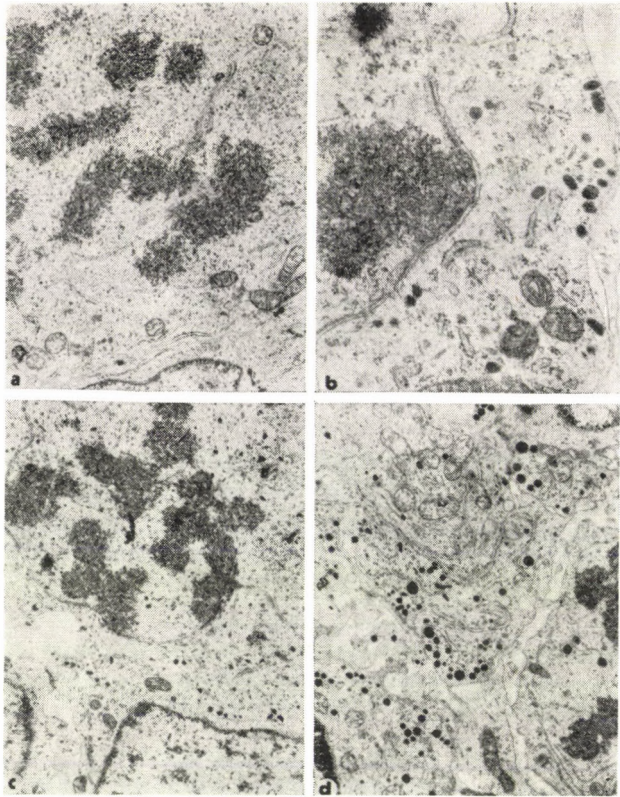


10 kép 13 napos patkány embrió hipofízis telepének részlete.

Mind a primitív elülső, mind a középső lebeny telepében, mind az áthajlási redőben a primitív hipofizeális üreg felé eső felszínén számos osztódó sejt található. 700 x.

Plate 10. Portion of the hypophyseal anlage derived from a 13-day-old rat embryo. A number of dividing cells is seen near the surface of the RATHKE's pouch in both primitive anterior and intermediate lobes as well as in the fold between them.





11. kép Patkány embrió elülső lebeny telepéből készült elektronmikroszkópos felvételek osztódó parenchimális sejtekről:

- |  |   |
|--|---|
| a: 18 napos embrió.<br>Alapnagyítás: 6100 x. | b: 19 napos embrió.<br>Alapnagyítás: 17000 x. |
| c: 19 napos embrió.<br>Alapnagyítás: 6100 x. | d: 21 napos embrió.<br>Alapnagyítás: 6100 x.  |

Plate 11. Electron micrographs of dividing parenchymal cells in the anterior lobe of hypophyses derived from

- |                          |                          |
|--------------------------|--------------------------|
| a: 18-day-old rat embryo | b: 19-day-old rat embryo |
| c: 19-day-old rat embryo | d: 21-day-old rat embryo |

a szemcsesűrűség az individuális sejtek citoplazmájában kevesebb, mint a felnőttékében.

A *primitív pars intermedia* a 15 napos embrióban, mint említettük, szorosan egymáshoz simuló oszlop elrendeződésű, elongált sejteket tartalmaz. Az öszefekvő citoplazma membránok egy-egy szakaszán kisebb-nagyobb rések — tágulatok — találhatóak, de sejtközötti állomány nem ismerhető fel. A RATHKE-tasak elülső lebeny — középső lebeny áthajlási redőjében az individuális sejtek nem különböznek egymástól, de a középső lebeny széli sejtjeiben a sejt felszín bolyhos, ugyanúgy, mint az egyes lebenyeket körülvevő sejtéké is. A parenchimális sejtek igen kis hányada szekréciós szemcséket tartalmaz, ami azt mutatja, hogy a heteroszintetikus működés bélyegei azonos időben jelennek meg az elülső és a középső lebenyben. A szemcséket nem tartalmazó sejtekben a durva felszíni endoplazmás retikulum részaránya kicsiny és csak egészen rövid szakaszokban található meg. A 18 napos embrió középső lebenyében változatlanul kevés a szekréciós szemcséket hordozó sejtek részaránya. Úgy tűnik azonban, hogy a szemcsés sejtek kétféle populációt alkotnak: egyikükben széli, másikukban random lokalizációban vannak a szemcsék a citoplazmában (9. kép).

A 21 napos embrióban csak kvantitatív különbség van a szemcsés sejtek arányában a felnőtt középső lebenyhez képest. Minden esetre az szembetűnő volt, hogy a hasonló korú embrió elülső lebenyéhez képest is a középső lebenyben kevesebb a szemcsés sejt ebben a magzati korban.

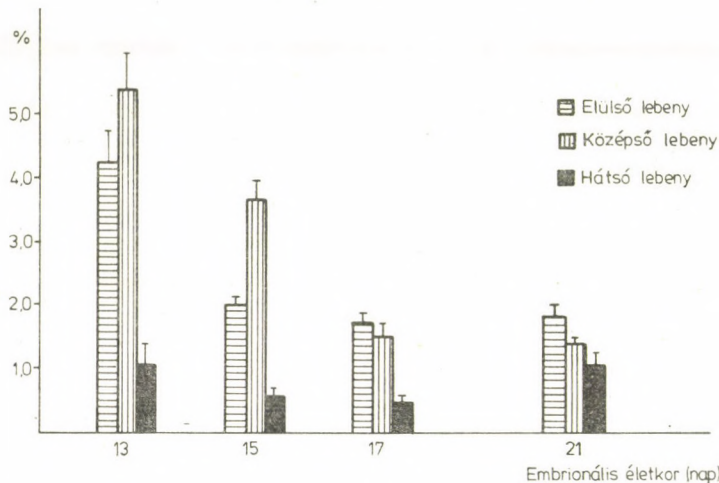
A *primitív pars nervosa* a 15 napos embrióban alig, a 18 és 21 napos embrióban bőven tartalmaz idegelemeket, amelyek a szerv heteroszintetikus tevékenységének letéteményesei.

A hipofízis ontogenetikai fejlődésének viszonylag korai szakaszában (emberben 7 hetes magzatban [3], patkányban 14—15 napos embrióban [10]) már heteroszintetikus munkát is végez. Biokémiai és citológiai módszerekkel ugyanis már ebben a korban ki lehetett mutatni az ACTH termelés jeleit. Ugyanakkor, populációs kinetikai szempontból, a mirigy zárt osztódó populációnak minősíthető, amelyben per definicionem sejtbeáramlás nincs. Kísérleti tények hiányában nincs módunk eldönteni, hogy a velőléc-eredetű sejtekkel bővített hipofizeális placode törzs (stem) típusú sejteket tartalmaz-e vagy nem. A már bizonyos heteroszintetikus tevékenységre képes telepben, élénk a mitotikus aktivitás, miközben fokról-fokra jelennek meg a különféle sejtvonalakra jellemző hormonelválasztás citológiai jelei. NAKAI és mtsai [7] adata szerint a mirigyben az embrionális élet 18. napján, patkányban, a DNS prekuzort beépítő sejtek százalékaránya csaknem eléri a 25%-ot, azután rohamosan csökken és a születés utáni 30. napon a timidin jelző index csupán 0,16%. Kérdés, hogy előbb a gyors, majd később a lassú növekedési szakaszban milyen sejtek szolgálnak osztódó populációként?

A patkány embrió intrauterin életének 13. napján, rutin eljárással festett metszetekben feltűnően sok osztódó sejtet lehet megfigyelni mind a primitív elülső, mind a középső lebenyben (10. kép), mérsékeltebb számban még a hátsó lebeny kezdeményében is. Az elülső lebenyben belül finomszerkezeti bélyegek alapján sem lehet megállapítani az osztódó sejtek endokrin elkötelezettségét, ugyanúgy, mint a nyugvó sejtékét sem. Az embrionális élet 15. napján az osztódó sejtek gyakorisága változatlanul jelentős az adenohipofízis telepében, a *pars nervosa*-ban az előbbi lebenyekhez képest a mitózis szám változatlanul alacsony. A későbbiekben a mitózis-gyakoriság fokozatosan csökken.



Hogy megfelelő képet kapjunk az osztódás-gyakoriság lebenyek közötti megoszlására az embriók korának függvényében, az osztódó sejtek számszerű elemzését is elvégeztük. Ebből az elemzésből kiderült (1. ábra), hogy a mitózisok gyakorisága nagyobb a primitív középső lebenyben a fejlődés 13.—16. napja között, mint az elülső lebeny telepében, majd a 17 és a 21 napos embriókban a középső lebeny sejtek osztódás gyakorisága elmarad az elülső lebeny sejtjeihez képest. A primitív középső lebeny kisebb térfogata és a nagyobb osztódás gyakoriság nehezen értelmezhető. Logikailag a következőképpen magyarázható: *a*) a RATHKE-tasak kisebbik hányada szolgál a középső lebeny telepéül; *b*) az intermedier lebeny sejtjeinek az adott embrionális korban a ciklus időtartama — s ezen belül a mitózis időtartama — hosszabb, mint az elülső lebeny telep sejtjeié; *c*) a középső lebenyben nagyobb mértékű a sejtpusztulás, vagy *d*) a sejtkiáramlás. Jóllehet egyik lehetőség fennállására sincs kísérletes bizonyítékunk, mégis az elsőnek van a legnagyobb valószínűsége. Az embrionális kornak ebben a szakaszában ugyanis valószínűtlen az egyenetlen ciklusidő azonos prekursor sejtekből való származás esetén, és mert sem a sejtelhálásra, sem a sejt kiáramlásra citológiai bizonyítékokat nem találtunk, bár ezek a morfológiai elemzés során várhatók lettek volna.



1. ábra A mitózisok százalékaránya az embrionális patkány hipofízisében  
 Fig. 1. Percentage of the mitotic cells in the vat embryonic pituitary gland

Az 1. ábrából még az is kiderül, hogy a hátsó lebeny sejtek osztódás gyakorisága időben nagyobb variációt mutat, de egyenetlesen alacsony — 1% alatti — szintje mindenképpen szembetűnő. Úgy látszik, a pituiciták elődei igen lassan növekvő sejtpopulációnak tekinthetők még az embrionális élet folyamán is.

Az általunk kolchicin blokádnélkül, „natív” készítményekben észlelt mitózis-gyakoriság jó összhangban van azokkal az adatokkal, amelyeket NAKAI és mtsai [7] a sejtek DNS prekursor felvétele alapján közöltek. Leírják, hogy az embrionális élet 18. napján a hipofízis-telep sejtjeinek a timidin indexe 24%-os, ami — tekintve véve az S-fázis és a mitózis időtartamát — abba a nagyságrendbe esik, amit a mitózis-számolásunk eredményezett. Az általunk újszülöttben számolt timidin index hasonlóan jól egyeztethető a mi mitózis számainkkal.

A patkány embrió hipofízis organogenezisének általunk vizsgált szakaszában a különösen nagy mitózis-gyakoriság és a felnőtt hipofízisében észleltékhez képest lényeges mennyiségű osztódás még a születéskor is, kézenfekvővé tette azt a törekvésünket, hogy osztódó sejtek finomszerkezeti bélyegeit feltárjuk. Ez annál is inkább fontosnak látszott, mert a fejlődés 14. napján már találtunk elkötelezett nyugvó sejtet, a 13. napon viszont sem a nyugvó, sem az osztódó sejtek nem látszottak endokrin elkötelezettséget mutatni.

Az elülső lebény telepéből készült vékony metszetekben rendszeresen kerestük az osztódó sejteket, különösen a 18 napos vagy annál idősebb embriónális hipofízisben, mert ezekben a differenciált sejtek nagy száma és változatosága több esélyt adott az elkötelezett osztódó sejtek felismerésére. Az osztódó sejtek tartalmazhatnak szekréción szemcséket (11. kép), ami arra mutat, hogy egy adott irányban differenciálódott sejtekről van szó. Arra azonban, hogy az autoszintézis mellett egyidejűleg hormon-szintézis is történt az ilyen sejtek citoplazmájában, bizonyítékunk nincs. Tény azonban, hogy mind a felnőttből, mind az embrióból származó anyagok metafázisos sejtjeiben a kromoszómák mellett a Golgi területein fiatal, formálódó szekréción szemcséket találtunk. Ez arra enged következtetni, hogy az ilyen osztódó sejtekben, a mitózis alatt, nem szűnik meg a szekréción szemcsék képződése, azaz a heteroszintézisre jellemző citológiai folyamatok a mitózis folyamán szabályszerűen zajlanak le az elkötelezett sejtpopulációkban is. Ezt a következtetésünket támasztja alá KUROSUMI [5] munkája, amelyből kiderül, hogy a teljesen differenciálódott laktotróp sejtek mitózisa alatt folytatódik a szekréción szemcsék képződése és release. Eddig az övé az egyetlen elektronmikroszkópos megfigyelés, amelyben meta- és anafázisos hipofízis sejtekben exocitózist írt le.

Saját leleteink és KUROSUMI [5] adata bizonyos ellentmondásban vannak YOSHIMURA és munkatársainak [18] adataival, akik a kromofób sejtek — különösen pedig a follikuláris sejtek — osztódó alakjait tekintik azoknak a tartalékoknak, amelyből az elkötelezett sejtek differenciálódnak. A neurogén markernek tekinthető S100 fehérje jelenléte a follikuláris sejtekben, és hiánya a parenchima sejtekben arra enged következtetni, hogy a follikuláris sejtek nem lehetnek a parenchima sejtek osztódási tartalékai [8].

Hagyományos hisztológiai eljárásokkal, különféle színezék-keverékek felhasználásával gerincesek hipofízis elülső lebenyében a sejtek három osztályba sorolhatók: acidofilek, bazofilek és „kromofób”-ok. Klasszikus felfogásban az utóbbiakról azt tételezték fel, hogy a színezéket gyengébben kötő „kromofób” populáció egységes és ezek a sejtek képezik az összes parenchima sejt vonal tartalcát. Amikor a hatvanas évek közepére finomszerkezeti ismérvek alapján kiderült, hogy valójában „kromofób” parenchima sejt — azaz szekréción szemcséket nem tartalmazó parenchimális sejt — nincsen az elülső lebenyben, ismételten felmerült a tartaléksejtek létezésének problémája. OLIVIER és mtsai [9] emberi — részint normális, részint kórbonctani — anyagok elemzési adatai alapján három hipotézisben foglalták össze az elülső lebény parenchima sejtek megújulásának lehetséges módjait.

a) Az egyik nézet szerint — ezt az egyszerűség kedvéért nevezzük most törzs-sejt hipotézisnek — az tételezhető fel, hogy a fénymikroszkóposan „kromofób”, elektronmikroszkóposan pedig gyéren szemcsézett sejtek képezik minden egyes parenchima sejt vonal tartalcát. Csak ezek az el nem kötelezett sejtek lennének képesek arra, hogy a szükségleteknek megfelelően osztódjanak és különféle funkcionáló sejtekké differenciálódnak. Ennek a hipotézisnek



módosított változataként fogható fel YOSHIMURA és mtsai [16, 17, 18] véleménye. Szerintük az elülső lebeny korai fejlődési szakaszában a primordiumban világosan elkülöníthetők folliculáris sejtek s ezek valamelyest módosult változatai, az ő szóhasználatuk szerint marginális sejtek, amelyek a virtuális hipofízeális hasadék elülső falának RATHKE-tasak eredetű hámsajtjei. Mind a lebenykezerte megtalálható, és a felnőttben főleg vázképző folliculáris, mind a marginális sejtek feltűnően élénk mitotikus aktivitást mutatnak. Utódsejtjeik pedig előbb átmeneti (ambiguous) aprószemcsés, később dúsan szemcsézett sejtekké alakulnak. A folliculáris sejteknek a felnőtt korban való jelenléte és osztódási képessége feljogosítaná ezt a populációt törzs-sejti működésre. Sőt YOSHIMURA végkövetkeztetése az, hogy a hipofízist megújulási rendszernek, sejtjeit megújuló populációnak tekinti.

b) A következő — lényegében a másik végletet jelentő — nézet szerint, amelyet önkényesen uniform vagy transzformációs nézetnek nevezhetünk, a hipofízisben egy adott funkcionáló sejtvonalon a differenciálódás nem végleges. Bármilyen „érettek” is bármelyik sejtvonalon parenchima sejtjei, egy másik sejtvonalba tartozó sejtje képesek átalakulni, egyszersmind megszerezvén az újabb sejtvonala jellemző morfológiát és szekréciós kapacitást [11].

c) A harmadik hipotézis hívei — legyen ez a sejtvonalon elképzelés — a nem-differenciálódott sejtartalékok létezését és szerepét kétségbe vonják. Úgy gondolják, hogy minden egyes hipofízis sejt egy-egy morfofunkcionális sejtvonalba sorolható. Bármelyik sejtvonalon a hiperplázia (sejtszaporodás) az azonos sejtvonalba tartozó sejtek osztódásának köszönhető.

Úgy tűnik, hogy a patkány embrió ontogenezise folyamán a hipofízis különféle parenchimális sejtjeinek megújulása a harmadik hipotézis érvényességét támasztja alá.

#### IRODALOM

1. BALLARD, W. W. (1964) *Comparative anatomy and embryology*. Ronald Press Co., New York.
2. FERRAND, R. and HRAOUI, S. (1973) Origine exclusivement ectodermique de l'adénohypophyse chez la caille: démonstration par la méthode des associations tissulaires interspécifiques. *C. R. Soc. Biol.*, **167**, 740—743.
3. GAILANI, S. D., NUSSBAUM, N., MCDUGALL, J. W. and MCLIMANS, W. F. (1970) Studies on hormone production by human fetal pituitary cell cultures. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **134**, 27—32.
4. HAMILTON, W. J. and MOSSMAN, H. W. (1972) *Human embryology*. W. Heffer and Sons Ltd., Cambridge
5. KUROSUMI, K. (1979) Formation and release of secretory granules during mitosis in the anterior pituitary gland. *Arch. Histol. Japon.*, **42**, 481—486.
6. LEVY, N. B., ANDREW, A., RAWDON, B. B. and KRAMER, B. (1980) Is there a ventral neural ridge in chick embryos? Implications for the origin of adenohipophyseal and other APUD cells. *J. Embryol. Exp. Morph.*, **57**, 71—78.
7. NAKAI, T., WATANABE, T., KIGAWA, T., AJIKA, K., MURASAWA, Y., KOBAYASHI, T. and KOBAYASHI, T. (1969) Developmental cell dynamics in the hypothalamus, the anterior pituitary and the ovary of the rat. *Endocrinol. Japon.*, **16**, 379—382.
8. NAKAJIMA, T., YAMAGUCHI, H. and TAKAHASHI, K. (1980) S100 protein in folliculostellate cells of the rat pituitary anterior lobe. *Brain Res.*, **191**, 523—531.
9. OLIVIER, L., VILA-PORCILE, E., RACADOT, O., PEILLON, F. and RACADOT, J. (1975) Ultrastructure of pituitary tumor cells: a critical study. In: TIXIER-VIDAL, A. and FAROUHAR M. G. (eds.): *The anterior pituitary*. Academic Press, New York, pp. 231—276.
10. SÉTÁLÓ, G. and NAKANE, P. K. (1976) Functional differentiation of the fetal anterior pituitary cells in the rat. *Endocrinol. Experiment.*, **10**, 155—166.

11. STRATMANN, I. E., EZRIN, C. and SELLERS, E. A. (1974) Estrogen-induced transformation of somatotrophs into mammotrophs in the rat. *Cell Tiss. Res.*, **152**, 229—238.
12. SVALANDER, CH. (1974) Ultrastructure of the rat adenohypophysis. *Acta endocrinol. (Kbh.)*, **76**, Suppl. **133**, 1—113.
13. TÖRÖ I. és CSABA GY. (1964) *Az ember normális és patológiás fejlődése*. Akadémiai Kiadó, Budapest, pp. 256—259.
14. WEICHERT, R. F. (1970) The neural ectodermal origin of the peptide-secreting endocrine glands. *Am. J. Med.*, **49**, 232—241.
15. WESTON, J. A. (1970) The migration and differentiation of neural crest cells. In: ABERCROMBIE, M., BRACHET, J., KING, TH. J. (eds.): *Advances in morphogenesis*. Academic Press, New York, Vol. **3**, pp. 41—114.
16. YOSHIMURA, F., ISHIHARA, N. and SATO, S. (1977) Cytological changes of Siperstein's corticotrophs following thyroidectomy. *Endocrinol. Japon.*, **24**, 551—563.
17. YOSHIMURA, F., SOJI, T. and KIGUCHY, Y. (1977) Relationship between the follicular cells and marginal layer cells of the anterior pituitary. *Endocrinol. Japon.*, **24**, 301—305.
18. YOSHIMURA, F., SOJI, T., SATO, S. and YOKOYAMA, M. (1977) Development and differentiation of rat pituitary follicular cells under normal and some experimental conditions with special reference to an interpretation of renewal cell system. *Endocrinol. Japon.*, **24**, 435—449.

ONTOGENESIS OF THE RAT HYPOPHYSIS:  
NEW FACTS AND THEORIES

*Rappay, Gy. and Bukulya, B.*

Institute of Experimental Medicine, Hungarian Academy of Sciences,  
Budapest, Hungary

Since the pioneering work of BALLARD a number of papers have been dealt with the early development of the hypophysis in different species. Results, though contradictory in some respect, suggest that, at least in amphibia and birds, the migratory cells of the neural crest may be involved in the formation of the hypophyseal anlage. In mammals, however, their involvement has not been evidenced. The recognition of the importance of the neural crest in the hypophyseal development led to a unifying concept of the ethiology of the multiple endocrine adenomatosis.

We studied the early developmental stages of the rat hypophysis, from the 13th day of gestation on. At this time the neuroectoderm cannot be recognized as an entity anymore so the fate of its cells in the hypophyseal rudiment cannot be followed by mere morphological means. From the 15th day there are committed mitotic cells, containing well-developed secretory granules, in the rudiment. This fact rises doubt against the chromophobic cell compartment being the only source of the cell renewal in the developing organ.





## SEJTHIBRIDIZÁCIÓS KÍSÉRLETEK SZÓJA ÉS BORSÓ PROTOPLASZTOK FÚZIÓJÁVAL

PRAZNOVSZKY TÜNDE, KURNIK ERNŐ, PAÁL HUBA és DUDITS DÉNES\*

Takarmánytermesztési Kutató Intézet, Iregszemcse-Bicsérd és  
\*MTA Szegedi Biológiai Központ Genetikai Intézete, Szeged

Beérkezett: 1980. augusztus 14-én

*Kulcsszavak:* protoplaszt fúzió, heterokarion, borsó, szója

### Bevezetés

Az utóbbi években végzett növény sejtgenetikai és szövettanyésztési kutatások megteremtették a testi, szomatikus sejtek fúziójával történő hibridizáció módszertani és elméleti alapjait. Jelentős az előrehaladás a sejtfal nélküli növényi sejtek, az úgynevezett protoplasztok izolálási és tenyésztési módszereinek kidolgozásában [6]. Egyre bővül azoknak a növényeknek a köre, amelyeknek tenyésztett protoplasztjaiból teljes növény nevelhető fel [4]. A polietilén-glikol (PEG) felhasználásával lehetővé vált a különböző eredetű protoplasztok hatékony fuzionáltatása [8, 12]. A fuzionált sejtekből regenerált növények vizsgálata igazolta, hogy szomatikus faj- és nemzetség hibridek egyaránt előállíthatók. Az eddigi szomatikus hibridizációs kutatások elsősorban a *Solanaceae* családba tartozó növényfajokkal folytak [11].

A sejt hibridizációs kísérletek kiterjesztése a gazdaságilag fontos pillangós-virágú növényekre új lehetőségeket nyithat a genetikai variabilitás növelésére. Ezek a kutatások egyrészt a szója és borsó protoplasztok *in vitro* tenyésztését [1, 2], illetve a kallusz szövetből történő növény regeneráció [7, 10] lehetőségeinek vizsgálatát célozták. A jelen dolgozat célja a szója és borsó protoplasztok fúziójából származó sejtek jellemzése és a fúziót követő citológiai események vizsgálata.

### Anyag és módszer

A szója (*Glycine max* L. Merr.) protoplasztokat egy a Prairie Regional Laboratory- (Saskatoon, Kanada)-ban előállított sejt vonalból izoláltuk. A szója sejteket Medium 1 tenyészoldatban [9] neveltük rázatott szuszpenziós kultúrákban, amelyeket 2—3 naponként passzáltunk. 24 órával a friss táptalajba történt átoltás után került sor a protoplasztok izolálására. A szója sejt-suszpenziót és az enzimkeveréket [3] 1,5 : 0,5 arányban kevertük, majd a sejtfal leemésztését 25 °C-on 20 órás inkubációval értük el, gyenge, 50 fordulat/perc rázás mellett.

A borsó (*Pisum sativum* L.) protoplasztokat steril tenyészetekben csiráztatott növények leveléből izoláltuk. A kísérletekben mind étkezési (*Petit Provencal*), mind takarmány (*Iregi P<sub>1</sub>*, *P<sub>3</sub>*) borsófajtákat használtunk. A borsó szemek higanykloridos felszínsterilizálásával nyertünk steril növényeket.



Az alsó epidermisz lenyúzása után a leveleket az enzim oldat [3] és a protoplaszt tenyészdoldat 1:1 arányú keverékével kezeltük. A frissen izolált szója és borsó protoplasztokat az enzim oldatból kimostuk, majd 1:1 arányban kevertük. A protoplaszt szuszpenziót plasztik petri csészébe kicseppentettük, majd a protoplasztok leülepedése után KAO és MICHAYLUK [8] módszere alapján glikol kezelést végeztünk. A fúziós kezelést követően a polietilénlikolt többszöri mosással eltávolítottuk. A protoplasztokat 0,55 mg/l 2,4-diklorfenoxi-ecet-savval kiegészített tenyészdoldatban [3] neveltük.

A szülői sejtek osztódási gyakoriságát 1000, a fuzionált sejtek osztódási gyakoriságát 20—40 sejt értékelésével határoztuk meg. A nem fixált tenyészetek fénymikroszkópi vizsgálatokor osztódottnak tekintettük azokat a sejteket, amelyekben az új sejtfa az ún. sejtlemes (phragmoplast) látható volt. A citológiai vizsgálat előtt a tenyészeteket 0,05%-os kolchicin oldattal 3 óráig kezeltük, majd a sejteket CARNOY I. oldattal fixáltuk. 60 °C-os 1 N HCl-el történt 10 perces hidrolízis után a sejteket bázikus fukszinnal festettük, majd száraz preparátumokat készítettünk, amelyeket 2%-os Giemsa oldattal kezeltünk.

### Kísérleti eredmények és megvitatásuk

A fúziós kísérletekhez használt szülői protoplasztok fénymikroszkóppal megbízhatóan megkülönböztethetők. A szója sejt kultúrákból izolált protoplasztok sűrű citoplazmájuk és kloroplasztiszokat nem tartalmaznak (*I/A kép*), míg a borsó levél protoplasztok jól felismerhetők a kloroplasztiszok jelenléte alapján (*I/B kép*). A polietilénlikol oldatot a protoplaszt szuszpenzióhoz adva a protoplasztok szorosan összetapadtak, agglutinálódtak (*I/C kép*). A membránok közötti közvetlen érintkezés megteremtette a membránfúzió feltételeit és lehetővé vált a protoplasztok egybeolvadása. A citoplazmák keveredését mutatja, hogy a sűrű citoplazmájú szója protoplasztokban borsó kloroplasztiszok találhatóak (*I/D kép*). A fúzió indukálására használt polietilénlikol eltávolítása után a megfelelő táptalajban a fuzionált protoplasztok sejtfalet regeneráltak. A szója és borsó protoplasztok fúzióját követően a heteroplazmás sejtek gyakorisága 2—10% között változott.

A fuzionált sejtek életképességének, a szója és borsó szomatikus sejtjeinek összeférhetőségét — a celluláris kompatibilitását — a heteroplazmás sejtek osztódási gyakoriságával jellemeztük (*I. táblázat*). A nem fuzionált szülői sejtek osztódási képességét értékelve megállapítható, hogy az alkalmazott tenyésztési körülmények mellett a szója protoplasztokból regenerált sejtek

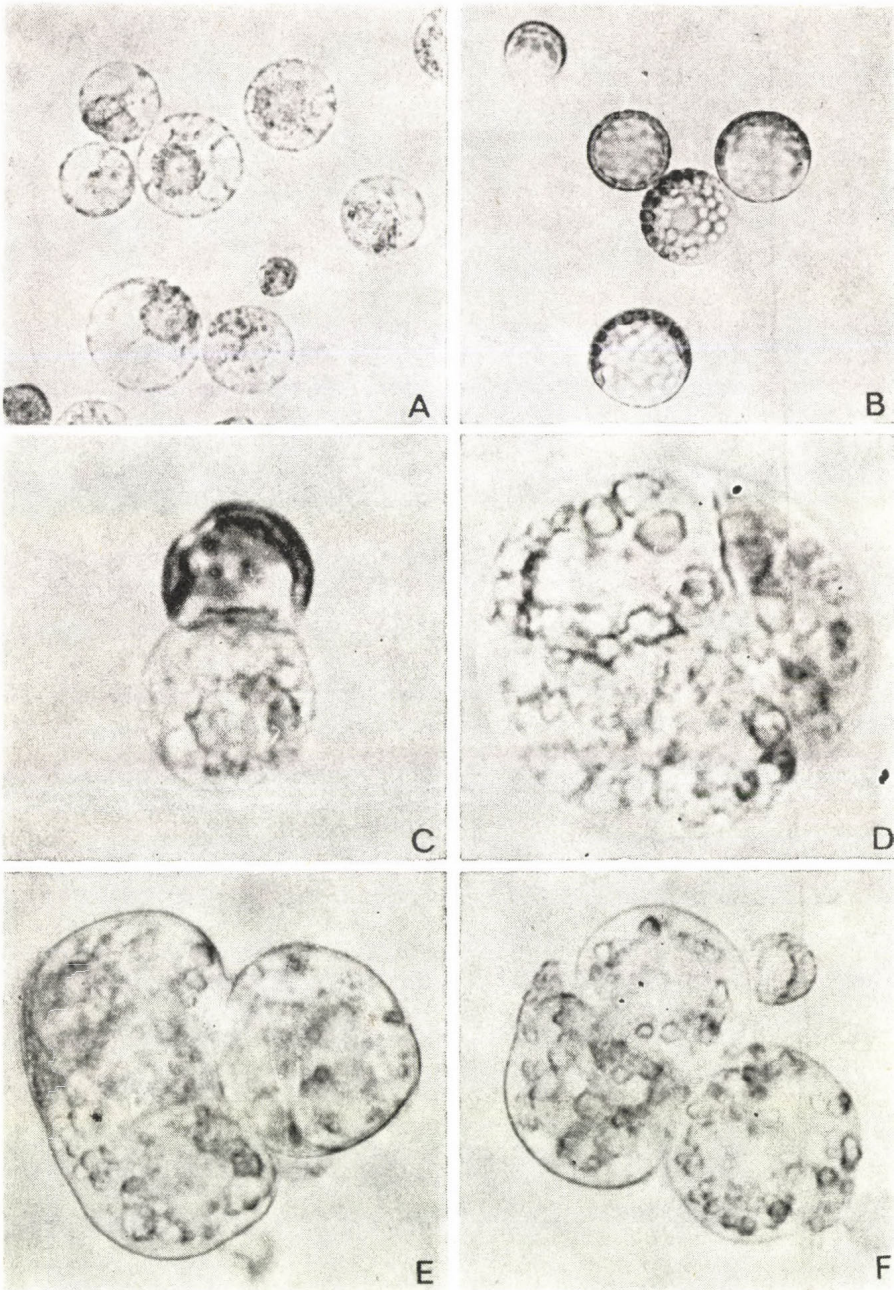
#### I. táblázat

A szülői és fuzionált sejtek osztódási képessége (%)

Table I. Division (%) in parental and fused cells

Fúzió utáni napok száma	Szója sejtek	Fuzionált sejtek	Borsó sejtek
3	24,3	0	0
4	48,3	0	7,3
5	64,5	22,3	14,9
6	79,2	33,3	21,9





1. kép Szója és borsó protoplasztok fúziója és a fuzionált sejtek osztódása

A: Sejtkultúrából izolált szója protoplasztok. 400 x.

B: Borsó levéltől izolált protoplasztok. 400 x.

C: Polietilén-glikol által indukált protoplaszt fúziók. 750 x.

D: Fuzionált protoplaszt. 1000 x.

E-F: Sejtfall regeneráció után osztódó fuzionált sejtek. 800 x.

Plate 1. Fusion between soybean and pea protoplasts and division of fused cells.

A: Soybean protoplasts isolated from cells suspension. x 400

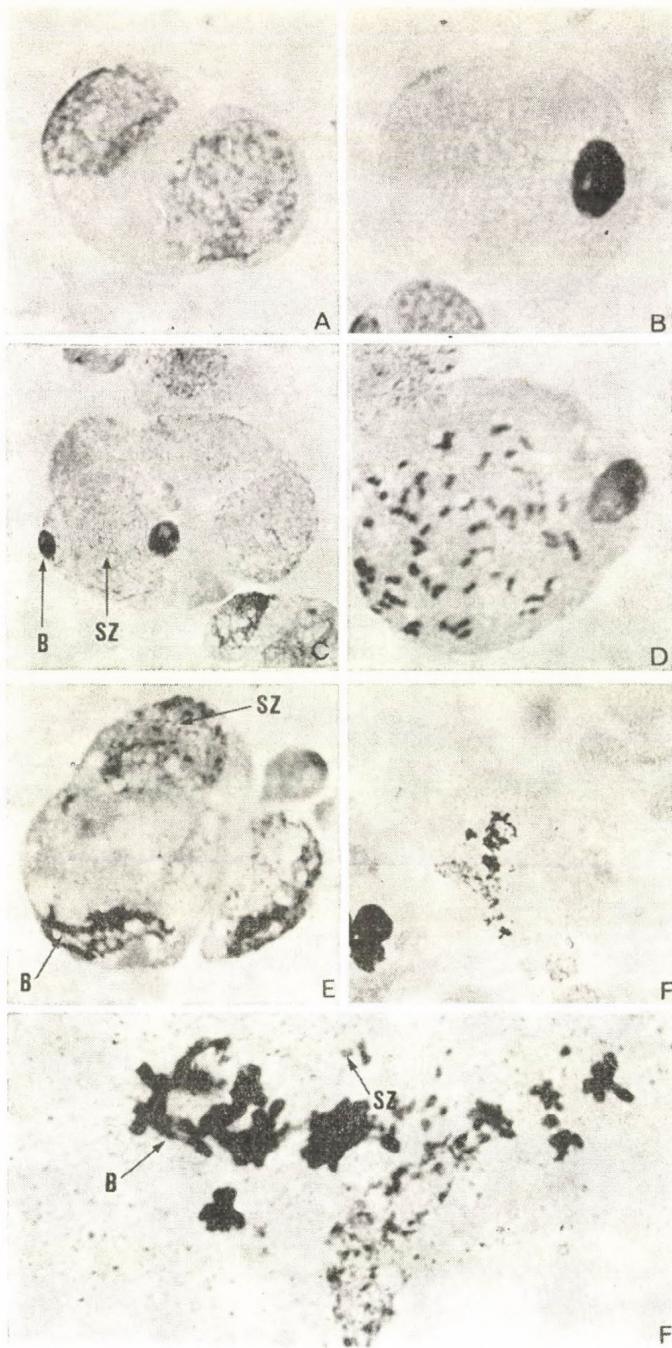
B: Pea protoplasts from leaves. x 400

C: Polyethylene induced fusion between the protoplasts. x 750

D: Fused protoplast. x 1000

E-F: Division in fused protoplasts after synthesis of new walls. x 800





2. kép A fuzionált sejtek citológiai jellemzése

- A: Szója sejt interfázisos sejtmaggal. 700 x.  
 B: Borsó sejt interfázisos sejtmaggal. 1000 x.  
 C: Szója-borsó heterokarion. 500 x.  
 D: Heterokarion szója kromoszómákkal és interfázisos borsó sejtmaggal. 1000 x.  
 E: Heterokarion mitotikus borsó és interfázisos szója sejtmaggal. 1000 x.  
 F: Egyidejű mitózis a heterokarion szülői sejtmagjaiban. 500 x, 2000 x.

Plate 2. Cytological studies on fused cells

- A: Soybean cell with interphase nucleus. x 700  
 B: Pea cell with interphase nucleus. x 1000  
 C: Soybean-pea heterokaryon after several division. x 500  
 D: Heterokaryon with soybean chromosomes and pea nucleus at interphase. x 1000  
 E: Heterokaryon with pea chromosomes and soybean nucleus at interphase. x 1000  
 F: Synchronous mitosis in parental nuclei. x 500 and x 2000



magas osztódási gyakoriságot értek el. Kisebb gyakorisággal a sejtfal szintézise után a borsó levél protoplasztok is osztódtak. A fúzióból származó sejtek jól kimutatható késéssel kezdtek osztódni (*I. táblázat*), de az osztódási gyakoriság elérte a 30%-ot. Többszöri osztódás, kolóniaképzés is megfigyelhető volt a heteroplazmás sejtek értékelésekor (*1/E és F. kép*).

A fixált sejtpopulációk vizsgálatára használt citológiai festés lehetővé tette az interfázisos szója és borsó sejtmagok azonosítását. A diffúz szója sejtmagok gyengén festődtek (*2/A kép*), a kisebb méretű borsó sejtmagok intenzív festődést mutattak (*2/B kép*). Borsó és szója sejttaggal egyaránt rendelkező sejtek, heterokarionok (*2/C kép*) kimutatása a polietilénlikollal kezelt tenyészetekben igazolta, hogy protoplaszt fúzió során nemcsak a citoplazmák keveredése következett be, hanem megtörtént a szülői sejtmagok egyetlen sejtbe kerülése is.

Több napos tenyésztés után a szója-borsó heterokarionok osztódása is megfigyelhető volt. Aszinkron osztódást mutat be a *2/D kép*, amelyen mitotikus szója és interfázisos borsó sejttag látható. Gyakran a szója sejtek osztódása után csak az egyik leánysejtben található borsó sejttag. Kimutathatók fuzionált sejtek, amelyekben a borsó sejttag elvesztette struktúráját. Ugyanakkor borsó kromoszómákat és interfázisban levő szója sejttagokat hordozó fuzionált sejtek is előfordultak a vizsgált tenyészetekben (*2/E kép*). A hibrid sejt kialakulásának lehetőségét mutatja, hogy a citológiai vizsgálatok során megfigyelhetők heterokarionok, amelyekben a szülői sejttagok egyidőben lépnek be a mitózisba. Szója és borsó kromoszómákat hordozó sejtet mutat a *2/F kép*. A borsó és szója kromoszómák a méretbeli eltérések alapján azonosíthatók.

A bemutatott kísérleti eredmények igazolták, hogy szója és borsó protoplasztok egyesítésével osztódásra képes fuzionált sejtek állíthatók elő. Továbbá, hogy a szomatikus sejtek egybeolvadását követően, az első sejtosztódások idején összeférhetlenségi tünetek nem jelentek meg. Ez a megfigyelés jó egyezést mutat más nemzetségek közötti sejt-hibridizációs vizsgálatok eredményeivel [5]. További kísérletek folynak annak megállapítására, hogy milyen feltételek mellett lehetséges a fuzionált sejtekből kallusz tenyészetek felnevelése. A későbbi tenyésztés során, ill. a szerv-redifferenciáció folyamán milyen sejtgenetikai módszerek szükségesek a szója és borsó génjeinek rekombinálását korlátozó tényezők kizárására.

## Összefoglalás

Polietilénlikol (PEG) kezelés hatására a szója sejt-kultúrából és borsó levélből származó protoplasztok között 2–10%-os gyakorisággal következett be fúzió. A további tenyésztés során a fúzióból származó sejtek a szülői sejtekhez viszonyítva jól kimutatható késéssel kezdtek osztódni, de az osztódási gyakoriság ezekben a sejtekben elérte a 33%-ot. A citológiai vizsgálatok kimutatták, hogy a fúzió során a citoplazmák keveredésével egyidőben megtörténhet a szülői sejttagok egy sejtbe kerülése is. A képződött heterokarionokban mitózis mindkét szülői sejttagban bekövetkezhet. Az aszinkron mitózis mellett megfigyelhetők fuzionált sejtek szója és borsó kromoszómákkal. A heterokarionok osztódási képessége a szomatikus inkompatibilitás kifejeződésének hiányára utal a fúziót követő korai szakaszban.



## IRODALOM

1. ARNOLD, S. V. and ERIKSSON, T. (1976) Factors influencing growth and division of pea mesophyll protoplasts. *Physiol. Plant.*, **36**, 193—196.
2. CONSTABEL, F., KIRKPATRICK, J. W. and GAMBORG, O. L. (1973) Callus formation from mesophyll protoplasts of *Pisum sativum*. *Can. J. Bot.*, **51**, 2105—2106.
3. DUDITS, D., KAO, K. N., CONSTABEL, F. and GAMBORG, O. L. (1976) Embryogenesis and formation of tetraploid and hexaploid plants from carrot protoplasts. *Can. J. Bot.*, **54**, 1063—1067.
4. DUDITS, D. (1979) Hibridizáció szomatikus növényi sejtek fúziójával. In: DUDITS, D., MALIGA, P. és FARKAS, G. L. (szerk.): *Növényi sejtgenetikai és szövettényészeti módszerek alkalmazása*. Akadémiai Kiadó.
5. DUDITS, D., HADLACZKY, GY., LÁZÁR, G. and HAYDU, Zs. (1980) Increase in genetic variability through somatic cell hybridization of distantly related plant species. In: SALA, F., PARISI, B., CELLA, R. and CIFFERI, O. (eds.): *Plant cell cultures: results and perspectives*. Elsevier North Holland, pp. 207—214.
6. GAMBORG, O. L. (1976) Plant protoplast isolation, culture and fusion. In: DUDITS, D., MALIGA, P. and FARKAS, G. (eds.): *Cell genetics of higher plants*. Akadémiai Kiadó, Budapest, pp. 107—129.
7. GAMBORG, O. L., CONSTABEL, F. and SHYLUK, J. (1974) Organogenesis from shoot apices of *Pisum sativum*. *Physiol. Plant.*, **30**, 125—128.
8. KAO, K. N., and MICHAYLUK, M. R. (1974) A method for high frequency intergeneric fusion of plant protoplasts. *Planta*, **115**, 355—367.
9. KAO, K. N. CONSTABEL, F., MICHAYLUK, M. R. and GAMBORG, O. L. (1974) Plant protoplast fusion and growth of intergeneric hybrid cells. *Planta*, **120**, 215—227.
10. MALMBERG, R. L. (1979) Regeneration of whole plants from callus culture of diverse genetic lines of *Pisum sativum* L. *Planta*, **146**, 243—244.
11. THOMAS, E., KING, P. J. and POTRYKUS, I. (1979) Improvement of crop plants via single cells *in vitro* an assessment. *Z. Pflanzenzüchtung.*, **82**, 1—30.
12. WALLIN, A., GLIMELIUS, K. G. and ERIKSSON, T. (1974) The induction of aggregation and fusion of *Daucus carota* protoplasts by polyethylene glycol. *Z. Pflanzenphysiol.*, **74**, 64—80.

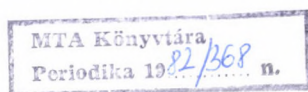
### FUSION BETWEEN SOYBEAN AND PEA PROTOPLAST DIVISION IN HETEROKARYONS

*Praznovszky, Tünde, Kurnik, E., Paál, H. and Dudits, O.\**

Forage Research Institute, Iregszemcse and \*Institute of Genetics, Biological Research Center,  
Hungarian Academy of Sciences, Szeged, Hungary

Fusion between protoplasts isolated from cell suspension culture of soybean (*Glycine max*) and from leaves of pea (*Pisum sativum*) was induced by polyethylene glycol treatment. The frequency of heteroplasmic fusion ranged between 2—10% in terms of number of soybean protoplasts. The fused cells started to divide with a delay, however, 33% of heteroplasmic cells were able to divide at 6th day after fusion.

The cytological studies revealed the formation of heterokaryons in which mitosis was detected in both types of parental nucleus. In addition to the asynchronous mitosis, fused cells with soybean and pea chromosomes were also observed. Further studies are in progress to analyse the fate of dividing fusion products.



A kiadásért felel az Akadémiai Kiadó igazgatója

Műszaki szerkesztő: Sándor István

A kézirat nyomdába érkezett: 1981. III. 15. — Terjedelem: 10,15 (A/5) ív  
82.9407 Akadémiai Nyomda, Budapest — Felelős vezető: Bernát György





## TARTALOM

KORÁNYI PÁL és GÁNTI TIBOR: Koenzimek, mint az ősi enzim-RNS-ek maradványai . . . . .	107
FÜLÖP-ASZÓDI LILI: Géninterakciók jelentősége egyes emberi vörösvérsejt alloantigénrendszerek bioszintézisében. (A véresoportok felfedezésének 80. évfordulójára írt tanulmány.) . . . . .	125
MÉSZÁROS JÁNOS, SZMODIS IVÁN, MOHÁCSI JÁNOS és FRENKL RÓBERT: A nemzedéki változás és a gyermekkori fejlődés kérdései az 1970-es években végzett keresztmetszeti vizsgálat alapján . . . . .	163
RAPPAY GYÖRGY és BUKULYA BÉLA: Adatok a patkány hipofízis ontogeneziséhez: tények és elméletek . . . . .	199
PRAZNOVSZKY TÜNDE, KURNIK ERNŐ, PAÁL HUBA és DUDITS DÉNES: Sejthibridizációs kísérletek szója és borsó protoplasztok fúziójával . . . . .	213



Ára: 26 Ft  
Előfizetés egy évre: 52 Ft

INDEX: 26.073  
ISSN: 0133-3844

INDEX

BIOLÓGIA (Budapest)  
29(2) (1981)

KORÁNYI, P and GÁNTI, T.: Coenzymes as Remnants of Ancient Enzyme Ribonucleic acid molecules .....	107
FÜLÖP-ASZÓDI, LILY: The importance of Gene Interactions in the Biosynthesis of some Human Erythrocytes Alloantigene Systems .....	125
MÉSZÁROS, J., SZMODIS, I., MOHÁCSI, J. and FRENKL, R.: Problems Posed by a Cross-Sectional Study of the Seventies Concerning Secular Trend and Child Development .....	163
RAPPAY, G. and BUKULYA, B.: Ontogenesis of the Rat Hypophysis: New Facts and Theories .....	199
PRAZNOVSZKY, TÜNDE, KURNIK, E., PAÁL, H. and DUDITS, D.: Fusion Between Soybean and Pea Protoplast Division in Heterokaryons .....	213