

306.441

VII

33
1985

biológia

33, 1985/1

AKADÉMIAI KIADÓ, BUDAPEST

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 *könyvismeretéseket 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 „*fejezettranszort*” kell mellékelni, amelyből világosan kiténik 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 *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) folyóiratcikk 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:** 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 megfogalmazása.

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 mellékelt 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 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 korrektrúrát piros színnel kell bejelölni. A kézitrattól 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* bocsátunk rendelkezésükre.

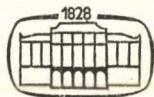
BIOLÓGIA

ELMÉLETI ÉS KÍSÉRLETI BIOLÓGIAI
FOLYÓIRAT

A szerkesztőség elnöke:
CSABA GYÖRGY

Szerkesztő bizottság:

CSÁNYI VILMOS
DOBOZY OTTÓ
(technikai szerkesztő)
FARAGÓ ANNA
GÁNTI TIBOR
HEGYI GYÖRGY
KISZELY GYÖRGY
KOMÁROMY LÁSZLÓ
VIDA GÁBOR



AKADÉMIAI KIADÓ, BUDAPEST

AZ INTEGRÁLT EGYEDFEJLŐDÉSI TRANSZFORMÁCIÓRÓL

MOLNÁR ISTVÁN

Eötvös Loránd Tudományegyetem Genetika Tanszéke, Budapest

Béérkezett: 1984. június 25-én

Kulcsszavak: Cuvier-probléma, hierarchia, organizáció-evolúció, reakciónorma, stabilitás

Bevezetés

Ez az írás a megoldás távolabbi reményében annak a titoknak ered a nyomába, hogy az élővilágot miért evolúcióképes, integrált, koherens organizációval rendelkező lények népesítik be, és miért nem HIERONYMUS BOSCH véletlen szerkezetű, fantáziavilágbéli formái, amely talán az organizmusok egy távolabbi elméletének artisztikus nullhipotézise. Ha egyáltalán ilyen elmélet kidolgozása valaha is lehetséges.

A vázlat tudománytörténeti fonálon indul, amelynek tengelyében CUVIER problémája és annak megoldási kísérletei állnak. Ezt követően a probléma megoldásának keretet adó hierarchiaelméleti problémákról, továbbá az egyedi organizáció és az ontogenezis evolúciós transzformációjáról esik szó.

Az organizmusok evolúciós változásának természetével kapcsolatos meggyőződésünk háttérében az az explicit előfeltevés áll, hogy az organizáció evolúciójának stabilitási változások szemléleti keretéhez kell kötődnie.

A Cuvier-probléma

Az egyedfejlődés és az evolúció csatolódásának problémájával a RAYMOND LASEK által ontofiletikának nevezett ősi és napjainkra átvantgardizálódott ontofiletika foglalkozik. A modern ontofiletika egy evolúciós dilemmára, a CUVIER-problémára való megoldás keresése közben sarjadt ki az ontogenetikából és a filogenetikából.

CUVIER az organizmusokat felépítő struktúrák koordináltságának bővítésében élt, és egyetlen csontfragmentumból képes volt egy egész organizmust rekonstruálni. Meglátta, hogy az organizmusok integrált egészek. Katasztrófistaként tudatában volt annak, hogy a kortárs LAMARCK által felvetett és bármely más evolúciós elméletnek azzal a problémával kell szembenéznie, hogy a masszívan integrált organizmikus alapterveket milyen mechanizmusok viszik át egy másik, szintén erősen integrált organizmikus alaptervbe.

A probléma CUVIER korában megoldhatatlannak bizonyult. A CUVIER-problémának, az integrált organizmikus transzformáció mechanizmusának a rejtélyére korunk kutatásai vetnek némi derengő fényt.

Szigorúan véve az organizmusok nem evolváltnak. Az organizmusok megváltozásai populációs átalakulások manifesztációi. Ha a különböző filogenetikai

helyzetű organizmusok egyedfejlődését összevetjük, a hasonlóságok mellett alapvető eltéréseket találunk. Az egyedfejlődés, az életciklusok evolúciójában számos probléma vetődik fel, amelyek a CUVIER-probléma értelmezéséhez kötődnek. A lehetséges értelmezések seregéből kettőt emelünk ki: az egyik argumentációs bázisa az ontogenetikai puffermechanizmusokra, a másik súlypontja a reakciónormák koordinált transzformációjára esik.

Az egyedfejlődési puffermechanizmusok a genotípusos változások következményeit, a géntermék-változások különböző szerveződési szintbeli hatásainak koordinált, posztgenomikus illesztése az organizmusok változatlanul maradt részéhez úgy, hogy az invariáns rész is harmonikusan transzformálódik [11].

Az evolúcióképeket LEWONTIN [14] transzformacionalizmusra és variacionalizmusra választja szét. A LAMARCK-i transzformacionalizmus az evolúció objektumainak változását élettörténetük folyamán az egyes egyedek elemeinek átalakulásához kötötte. DARWIN variacionalista princípiuma szerint egy sokaság egyedei bizonyos tulajdonságokban eltérnek egymástól, és a rendszer a különböző típusok arányainak megváltozása révén változik meg olyan szelektív folyamatban, amelyben bizonyos variánsok túlélnek, mások kipusztulnak. A darwinizmusban a történelem dominál az ontogenezis felett, transzformacionalizmusban pedig az egyedfejlődés dominanciája érzékelhető a filogenezis felett. Az egyedfejlődés és a törzsfejlődés viszonya is tisztázható valamelyest: „Az a (transzformacionalista) nézet, hogy az egyedfejlődés elkerülhetetlenül egymásra következő stádiumok kibomlása, bár inkorrekt, az ontogenezis egy fontos tulajdonságát foglalja magába, vagyis azt, hogy az egy történeti folyamat, amelyben a megelőző állapot (LEWONTIN szerint markovi módon) befolyásolja a rákövetkező állapotot. Az egyedfejlődés továbbá esetleges folyamat, amelyben egy (evolúciós) erő hatása nem specifikálható általában, hanem csakis egy aktuális kontextusában” [14].

Az evolúciós elmélet számos klasszikusa az evolúciót a populációk genetikai transzformációjaként értelmezte, amelyet a modern szintézis bizonyos kritikussai, pl. GOULD [7] és mások némileg túlozva extrapolacionista, minden szintre kiterjesztett genetikai redukcionizmusként érzékelt.

WADDINGTON [33], RENDEL [22] és LEWONTIN [14] szemléletében a hierarchikus távlatokat számon tartva organizmikus szinten a genotípusos, a fenotípusos és a környezeti hatások reakciónormákban kapcsolódnak össze. A reakciónormák környezethatásra adott genotípus függő fenotípusos válaszok halmaza egy (esetleg többdimenziós) környezethatás-fenotípus állapot térben. Az egyedfejlődés menetében a fének átfedésmentes (minőségi tulajdonságokhoz tartozó) és az átfedő (mennyiségi tulajdonságokhoz tartozó) rögzített időbeli reakciónorma-pályákon terülnek ki. A fejlődő organizmusok környezeti paramétereinek eloszlását a reakciónorma fenotípusos eloszlássá transzformálja, genotípusos szabályoknak, valamint fenotípusos és környezeti kényszerfeltételeknek megfelelően [16, 17].

A vulgárneodarwinista vád az organizmikus evolúció szintjén nem vethető fel, ha az organizmikus evolúció a genotípusos és az epigenetikai transzformációt egyaránt magába foglaló, a téridőben deformálódó geometriájú reakciónormák transzformációjaként fogalmazódik meg [17]. RIEDL [23] meggyőzően megmutatta, hogy az organizmikus változások interdependens, egymással kölcsönható módon futnak le. Továbbá az ontogenetikai kényszerekre vonatkozó megfigyelések [2, 6, 21, 23] alátámasztják, hogy a reakciónorma-transzformációk-

ban szemlélt evolúciókép nincs ellentmondásban a klasszikus evolúció-megfogalmazásokkal, és miután az epigenetikai transzformációkat is magába foglalja, tágabb annál. Ily módon sem az organizmusokat, sem az evolúciót nem szimplán a genotípus és a környezethatás generálja, hanem az organizmusok evolúciójuk során önszervező módon részben önmaguk konstruktorai (vö. [14]).

A hierarchiáról

Általában a jelenkori evolúciós gondolkodás számos varázsige körül gubancolódik össze, amelyek egyike a hierarchia. Szigorú értelemben a hierarchia legalább parciális rendezést jelent, azonban irányításelméleti konnotációt is hordoz, gondoljunk a komplikált idegi központok alá- és fölérendelt kölcsönhatási struktúráira. Ma még nincs konzisztens elmélete annak, hogy valójában a hierarchia manifesztációjának milyen evolúciós következményei létesülnek. A kritikusok extrapolációnizmussá egyszerűsítik az evolúció szintetikus elméletét: a gényakoriságok minden szerveződési szintet elrendeznek és össze is kötnek. A szintézis nagymesterei közül ezzel az érveléssel szemben MAYR és WRIGHT mindig hangsúlyozták az organizmusok és a fajok redukálhatatlanságát.

Az élővilág többszintű szerveződésének milyen hatása van az evolúciós gondolkodásra? JACOB [9] megfogalmazása alapján a következők mondhatók el: „Az egymásra következő integrációknak, amelyek korlátozásokkal és új tulajdonságok megjelenésével jellemezhetők minden szinten, számos következménye van. Az első a komplex objektumok analizálásának szükségszerűsége minden szinten. Hogy a molekuláris biológia az öröklődés ilyen sikeres elemzését eredményezte, az főképpen azért volt lehetséges, mert az analízist minden lépésben egyidejűleg vitték végig a molekulák és a fekete doboz, a bakteriális sejt szintjén. . . . A második szempont a megjósolhatatlanságra vonatkozik. Lehetséges predikciókat tenni az egyik szinten az alapján, amit egy egyszerűbb szinten ismerünk? Csak egy korlátozott fokig.”

És ez az a kritikus pont, amelyet nem léphet át a jelenkori ontofiletikus gondolkodás sem. Mit mondhatunk el röviden magának a hierarchiának a természetéről, amely az organizmikus biológiáról való tűnődés kerete?

A világ nem sima kontinuum, hanem inhomogenitásokkal tagolt, szintekbe szerveződik, hierarchikus természetű. Hierarchikus rendszeren vagy hierarchián HERBERT SIMON [27] megfogalmazásában olyan rendszert értünk, „amely egymással kölcsönösen kapcsolatban álló részrendszerekből áll, és az utóbbiak ugyancsak hierarchikus struktúrájúak egészen addig, amíg el nem érünk az elemi részrendszerek legalacsonyabb szintjére”. PATTEE [19] a hierarchiaképződés központi mozzanatát a szerveződési szintek közötti csatolódást megvalósító közfelületek (interfaces) működésében látja. A jelenkori evolúciós elméletben különösen releváns, hogy az evolúciós szemlélet milyen filozófiai háttéren határozódik meg. „Metafizikai szempontból a hierarchiaelmélet a redukcionizmus buktatóit szeretné elkerülni, és pozitívan szeretne rámutatni az egyszintű leírások fogyatékoságaira és alapvető elégtelenségére. A hierarchiaelmélet kiindulópontja, hogy stabil közbeeső strukturális szintek nélkül a komplex rendszerek megértése elképzelhetetlen” (cit. ÉRDI [4]). A hierarchikus rendszerek vizsgálatában a legnagyobb problémát az evolúciós objektumok komplexitása és azok adekvát többszintű leírása jelenti.

A hierarchiaképződést inhomogenitások kialakulása előzi meg, és az egymás fölé rétegződő szerveződési szintek egymásra kényszerekként, kezdeti és határfeltételek alakjában hatnak. A szerveződési szinteken belül az egyes entitások bizonyos sajátságokra, pl. méretre, formára, sebességre stb. többnyire homogénebbek, mint különböző szerveződési szintek között. A hierarchiaszintek kölcsönhatásának, az internívónak a problémája nyitott. Bár a szerveződési szintek relatív autonómiával rendelkeznek, olykor az egyik szinten bekövetkező állapotváltozások a többi szinten perturbációként katasztrofikus hatásokat létesíthetnek. Az infraindividuális szerveződési szintek stabilisaknak tűnnek a perturbációkat csillapító homeosztázis okán. A szintezettség stabilitása a szupraindividuális szerveződésben illúzió, ahol egyre nyilvánvalóbbá válik a szintezettség perturbáció-függése.

Az egyes szerveződési szinteken az egyedek, populációk, fajok egymással csatolt és visszacsatolt viszonyban állnak. A jellegáthelyeződés, amelynek során két, földrajzilag átfedő területen élő faj kölcsönhatásuk következtében fenotípusosan divergál, szemléletesen illusztrálja, hogyan oldódhat meg az egyik szinten felmerülő probléma egy alacsonyabb szinten.

A hierarchiák képződését megelőző inhomogenitások fellépésének egy lehetőségére YATES [36] mutatott rá. YATES abból indult ki, hogy „Egy kontinuum-szerű mező hogyan válik inhomogénné?” Az áramlástanból ismeretes, hogy egy áramlási térben egy időtől független áramlási folyamat, a lamináris folyás átmehet egy erősen inhomogén aktív állapotba, ami különböző időtől függő struktúrákat tarthat fenn, ha az áramlási sebesség vagy az áramlási mező egy meghatározott dinamikus küszöb föl van hajtva. A küszöb mértéke a REYNOLDS-szám, amely — elkerülendő az áramlástani bonyodalmakat — durván leegyszerűsítve egy konvektív per diffúzió sebesség-arányra általánosítható. A konvektív sebesség új momentum vagy kinetikus energiát sodor az áramlási mezőbe. „Ez az új egyenlet sugalmazza, hogy hogyan jelenik meg a (réteges) forma. Ha egy impulzus vagy energiafluxus abszorbeálódni tud egy rendszer belső mechanizmusába (vagyis eloszlik a belső szabadsági fokok között és felszívódik a kölcsönhatási sémába), akkor a mező homogén, lamináris, termodinamikailag degradatív állapotba relaxálódhat. Ez akkor következik be, ha a REYNOLDS-szám $Re > 1$. De ha a belső mechanizmusok nem képesek abszorbeálni az energia támadását, akkor a mező nem maradhat homogén és stabilis. Darabokra törik és új mintázatok vagy struktúrák képződésén keresztül inhomogénné válik. Feltételezzük, hogy a stressz szintje nem elégséges a sok kialakulásához. Ilyen módon csak néhány rendelkezésre álló anyaggal és princípiummal a rendszerek egy formadiverzitást fejleszhetnek ki energetikai inputok hatására. Az erőrendszerek újraskálázódnak az emergens skálákon keresztül, ami most egy új, magasabb rendű kontinuum mező atomizmusait képezheti. Eképpen folyamat és kölcsönhatás új skáláit nyerjük, valamint térbeli és időbeli hierarchiát. A hierarchikus rendszerek időskálákban éppen olyan variabilitást mutatnak, mint térskálákban” [36].

A hierarchiaelmélettel kapcsolatos elemi kommentár és a hierarchiák képződésének homeokinetikai fizikai aspektusból való bemutatása után most a hierarchikus szerveződés szelektív előnye természetére mutatunk rá. Komplex rendszerek evolúciójában a hierarchikus szerveződés a moduláris architektúrával való építkezés révén a hierarchikus organizációjú rendszereknek elégséges idejük maradt kifejlődésükre a véletlen környezeti perturbációk zuhatagában [27].

Az evolúció hierarchiaelméleti aspektusai a szintek természete, kölcsönhatásai és a szelekció egységei körül fókuszálódnak. Erős a gyanú, hogy az evolúció egységei szituáció-függőek, a replikátorok és az evolúciós kölcsönhatások egységei nem általában, hanem lokálisan determináltak [2].

Nagyméretű rendszerekben a hierarchia az alrendszerek kooperativitásával társul. Kooperatív rendszerekben a lokális pillanatnyi optimumok hosszú távú, globális működési stratégiákba épülnek be, ezért kerülhető el az anarchia. A kooperatív rendszerek alrendszerei relatív autonómiával rendelkeznek, amelyek hierarchikus szervezéssel egészülnek ki, és a rendszer egészének működéséről az autonómia következtében sehol sincs teljes információ. A hierarchikus szerveződés tehát az organizáció egyéb sajátágaival, mint a kooperativitással, kompetícióval, aggregációval, szegregációval stb. komplementer relációban áll.

Az organizációelméleti kérdések után tekintsük át, hogy milyen hierarchikus elrendezésben történhetett az egyedfejlődés evolúciója stabilitási változások bázisán.

Az integrált egyedfejlődési transzformációkról

Az egyedfejlődési transzformáció stabilitási változásokra épül. A stabilitás fogalma egy rendszer kezdeti egyensúlyi állapotának visszaállítását jelenti meghatározott zavarás vagy perturbáció lezajlása után. Lokális stabilitás esetén relatíve kis perturbációkból, globális rendszerstabilitás esetén minden lehetséges perturbációra létezik visszatérés a rendszer kezdeti állapotába. A stabilitási tulajdonságok variábilisak, stabilitás-családok léteznek.

A stabilitással számos koncepció fonódott össze. A rendszer rezisztenciája változói megváltozásának foka a perturbációt követően. A rezisztencia a zavarás lezajlását követően a változók egyensúlyra történő visszatérésének sebessége. A perzisztencia az az idő, amely alatt egy objektum meghatározott változója éppen nem változik, ennek reciproka a turnover [20].

Az evolúciós modellek az evolúció kváziegyensúlyi vagy nem egyensúlyi lefutása alapján kváziegyensúlyi [7] vagy nem egyensúlyi [34] modellekre oszthatók, melyek stabilitási szemléletükben különböznek. Az egyensúlyi evolúciókép a pontozott egyensúlyban látja az evolúció menetét. Eszerint az evolúció globális állandóságát rövid idő alatt lezajló lokális változások törlik meg. A nem egyensúlyi evolúciókép szerint az evolúció az ontogenezisben fellépő instabilitások miatt soha sincs egyensúlyban.

A pontozott egyensúlyi evolúciókép semmilyen kinyilatkoztatott stabilitástípusra nem épít, hiszen a sokféle, olykor perturbációfüggő szerveződési szintekhez társuló stabilitási formák seregét kellene felsorolni. A nem egyensúlyi evolúciókép a PRIGOCINE-féle disszipatív, energiaszóró struktúráképződést leíró nem egyensúlyi termodinamikusan stabilitásnak egy molekuláris szintről a fajokra történő merész extrapolációja.

Az organizmusok egyedfejlődése és a generációs ciklusok evolúciója is számos stabilitási típust hordoz. Így kiemelkedő az egyedfejlődés némi szkeptizmussal fogadott katasztrófaelméletében a strukturális stabilitás (THOM, [31]), továbbá a SLACK [28] által különös nyomatékokot kapott szimmetriatörő instabilitások jelentősége, hol az utóbbiak makroszkopikus inhomogenitással erősített kémiai állapotok mikroszkopikus fluktuációiból származhatnak.

Úgy tűnik azonban, hogy létezik egy speciális stabilitás-család, amelyben az organizmikus komponensek komplexitási, stabilitási és diverzitási relációi ígéretszerűen viszonylag hűen reprezentálhatók. Ez kísérhető meg SILJAK [25, 26] konnektív stabilitási elméletének keretében. SILJAK megmutatta, hogy egy rendszeren belül a relatíve autonómmá szegregálódott alrendszerek akkor is stabilisan tartják a teljes rendszert, ha strukturális perturbációk hatására az alrendszerek asszociációjában és disszociációjában, valamint az alrendszerek csatolási, kölcsönhatási rendjében lényeges változások következnek be. Vagyis egy rendszeren belül az alrendszerek relatív autonómiájának növekedése kompenzálhatja az alrendszerek csatoltságának intenzitását. A konnektív stabilis rendszerek modelljei optimalizációs modellekkel is összekapcsolhatók, amelynek keretén belül kimutatható, hogy bizonyos szituációk a stabilitásra optimalizálnak, még hierarchikus, réteges rendszerekben is [26].

Miután az organizmikus biológia nem hágott még fel az egzaktág ama fokára, ahol formális matematikai okoskodással az intuíciónál messzebbre juthatnánk, a technikalitásokat elhagyva beérjük azzal, hogy rámutathatunk a konnektív stabilitás lehetséges relevanciájára az integrált organizmikus transzformációban.

Milyen jelek valószínűsítik az organizmikus konnektív stabilitás vagy vele rokon stabilitási család lehetséges létezését? A konnektív stabilitási feltevés értelmezhet olyan organizmikus sajátosságokat, mint pl. miért lehet relatíve autonóm genomja a sejtorganellumoknak túl sok szimbiotikus és/vagy autogén eredetén, hogy az egyes testszegmentumok miért kerülnek relatíve autonóm genetikai reguláció alá az eredetileg identikus szegmentum genézis nem ekvivalens szegmentációs fázisában, hogy miért van a szívnek az idegrendszerrel relatíve autonóm beidegzése stb. Általában pedig felvethető a strukturális és funkcionális integráltsággal szemben az egyes organizmikus komponensek relatív autonómiájának, decentralizációjának szükségessége az organizációs elemek relatíve független evolúciójával kapcsolatosan [29].

Az organizmikus konnektív stabilitásra és robosztusságra vonatkozó sejtés mögött az a feltevés áll, hogy különböző hierarchikus kontextusokban: konkrét molekuláris, sejtorganelláris, sejtpopulációs, szöveti és szervi modellrendszerek cáfolhatósági és operatívizálhatósági alapot jelenthetnek a konnektív stabilitásnak az organizáció transzformációjával kapcsolatos jelentőségének megítéléséhez (lásd a Függelékét).

Technikai szinten felvethető az organizmikus konnektív stabilitás több szerveződési szinten elvégezhető tesztelésének kérdése. Amennyire megítélhető, a szupraindividuális organizációra vonatkozó tapasztalatokat kivéve, kizárólag sejtes rendszerek nyílt kémiai reakciórendszereinek körében végzett el LADDE [12] konnektív stabilitási analízist, az alábbi konklúzióra jutva: „Megmutatható, hogy stabilis reakció alrendszerekben a stabilitás megbízhatósága magas, és nem stacionárius nemlineáris perturbációk egy széles tartományát képes tolerálni. Megjegyeztük továbbá, hogy genetikai rendszerek és ökoszisztémák stabilitási tartományai kémiai reakciórendszerek stabilitási tartományainak tekinthetők.”

A morfológiai fenotípusok körében az organizmikus konnektív stabilitás hipotézise olyan absztrakciós fokon ellenőrizhető, melyet RIEDL [23] képviselt a makroevolúciós események rendszerelméleti analízisében (lásd a Függelékét).

Napjaink ontofiletikájának különösen érdekes területe az ontogenetikai puffermechanizmusok tanulmányozása [11], amely a CUVIER-problémára próbál magyarázatot adni. KATZ és a köréje tömörült kutatók az idegrendszer egyedfejlődésének és törzsfejlődésének csatolódásának vizsgálatában demonstráltak a CUVIER-problémára visszanyúló integrált organizmikus transzformációval és az egyedfejlődés evolúciójával kapcsolatos elemi jelenségeket. Kimutatták, hogy bizonyos mutációk fenotípusos következményeit az idegrendszerben posztgenomikus, epigenetikai mechanizmusok illesztik az organizmusok invariánsan maradt részéhez úgy, hogy az invariáns rész is koordinált módon megváltozik. Az axonok, dendritek és a szinapszisok által rögzített neuronhálózatok sejt kapcsolódási rendjét megzavaró mutációk fenotípusos megváltozásait szelektív sejthalál, szelektív szinapszis-elimináció, és kompenzatorikus beidegzések integrált módon újra az agy további részeihez illesztik. Egy relatíve autonóm hierarchikus elemekből felépült rendszer elemeinek és konnektivitási rendjének strukturális perturbációja során is stabilis marad.

Az igen nagyra becsült KATZ-féle iskolával szemben a hazai agykutatás műhelyeiben világosabban felismerték az idegrendszeri szerkezetek, mechanizmusok és a konnektív stabilitás lehetséges összefüggésének jelentőségét. A SZENTÁGOTHAÍ ÉS ÉRDI [30] által körvonalazott általános agyelmélet magába építi SILJAK belátásait. „A biológiailag releváns dinamikus rendszerek általában úgy tekinthetők, mint kölcsönható konstituensek valamilyen heterogén kompozíciója. A konstituensek egy csoportja működése során szétesatolóddhat a rendszer többi részétől, megváltoztatván „morfológiáját”. Ezek a szétesatolódások a rendszer „természetes viselkedésének” valamilyen hibájából is eredhetnek. „. . .Hogy a rendszer fönntartsa sajátos funkcióit, meg kell tudnunk válaszolni a következő típusú kérdéseket: a rendszer teljesítményét milyen fokig értintik strukturális változások? Lehetséges-e a rendszer stabilitásának biztosítása előre kiválasztott strukturális perturbációk alatt? . . .” (SILJAK [26], 62. old.). Az idegrendszeri mechanizmusok strukturális perturbációik során a konstituensek disszociációja és reasszociációja a „dinamikus megbízhatóság” keretei között megy végbe.

A konnektív stabilitások bázisán elképzelt ontogenezis-evolúció gyökereken különbözik mind a térelmélet által inspirált evolválódó önszerveződési mezőkre alapozott képtől [6], mind pedig az egyedfejlődés heterokróniás transzformációján alapuló képtől [1]. A heterokróniás egyedfejlődés-evolúciókép a differenciációs folyamatok időzítését feltüntető időtengelyből, a méretből és a formából álló állapotterben reprezentált O_i ontogenetikai trajektória F filogenezisén a trajektória $F: O_i \rightarrow O_j$ geometriai transzformációt érti. Mindhárom elképzelésben közös azonban az állapotrendszer valamilyen nyomának jelenléte, eltérően OLSON és MILLER [18] fenotípusos és genotípusos korrelációkra építő morfológiai integrációs megközelítésétől.

Az egyedfejlődés komponensfolyamatainak téridőbeli megváltozása új organizmusok kialakulására vezet. Populációs szinten az egyes organizmusok az evolúciós erők kölcsönhatási struktúrájában differenciálisan gyarapodnak és tűnnek el a megsemmisülés örvényeiben. Ez a folyamat a populációk differenciálódására, organizmikus heterogenitásuk módosulására vezet. A változatok elterjedésében, az ökológiai relációkban is immanens a stabilitás kérdése, amit világosan mutatnak SILJAK [26], GEIGER [5] és PIMM [20] passzusai. A strukturális stabilitás kérdése azonban csakis időbeli aspektusban merül fel, és homályban marad annak térbeli vetülete. Az evolúciós objektumok stabilitásának

időbeli, térbeli és téridőbeli aspektusainak együttes feltárása a jövődjő játéka marad.

Reakciónormák fenotípusos és környezeti dimenzióinak kiterjesztésével vagy kontrakciójával, a reakciónormákból képezhető különböző dimenzionalitású állapotterek analízisével izogénes populációk egymástól független vagy kölcsönhatásban álló populációk együttes reakciónorma-transzformációinak vizsgálatával számos kardinális ősi organizációs probléma vizsgálható [16]. Ezek körébe tartozik az ontogenetikai kényszerfeltételek és az általuk generált koordináltság, az adaptáció, a folytonos és diszkrét fenotípusos változások, az egyedfejlődés kanalizációjából eredő fenotípusos stabilitás, a populáció-differenciáció stb. elemzése. Hogy a reakciónorma vizsgálatok a szupraindividuális szerveződés és az egyedi organizáció összekapcsolódására is felhasználható, világosan megmutatkozik SEVERCOV [24] egy munkájában, aki reakciónormák növekedésére szelektált kétéltűekben. A pontozott egyensúly elmélete által kiemelt fenotípusos stabilitás természetének feltárása különösen jelentős lenne, miután WADDINGTON stabilizáló szelekcióval értelmezett kanalizáció koncepciója, LERNER heterozigótákra épített populációs szintű genetikai homeosztázisa és a társulások ökológiai homeosztázisa alapján a makroevolúciós léptékű fenotípusos stabilitást nem lehet értelmezni (vö. [8, 10]).

NIETSCHE bizonyos meditációit a Rig-véda egy olyan sugallatával indítja be, amellyel az organizmusok integrált transzformációjáról alkotott képünk átmenetileg lezárható, és a probléma megoldásának keresztmetszete jellemezhető: „Számptalan hajnalpír van, mely nem ragyogott még fel.”

Függelék

Bizonyos standardokat követve az irodalomban felmerült szempontok alapján az egyedfejlődési integráció képe élesebbé csiszolható, ha az integrációt generáló egyedfejlődési kényszerfeltételek elemelzhetőségét pontosítjuk.

Az evolúciós irányítás belső, organizmikus és környezeti, jobbára szelektív eredete örök dilemma. Evolúcióképünk akkor lesz kiegyensúlyozott, ha az organizmusok epigenetikus szerveződését, genotípus-fenotípus relációját és a környezethatást egyaránt figyelembe tudja venni. Még az ortodox neodarwinisták is, mint MAYNARD SMITH [15] elismerik, hogy az organizmusokat belső egyedfejlődési kényszerek lokálisan rögzítet, általában változó tartományok közé terelik, melyek folytonos és diszkrét természetűek egyaránt lehetnek. Az egyedfejlődési kényszerek korlátozzák az egyedfejlődési és a belőlük láncolódó evolúciós utakat. A neodarwinizmus kritikusa [6, 7] szerint azonban az elmélet lelkét jelentő populációgenetika nem képes figyelembe venni az egyedfejlődési kényszerek evolúciós hatásait. Márpedig a fenogenezist és a párosodási rendszert generáló egyedfejlődési folyamatban izogénes vonalak azonos környezeti feltételek mellett is megőrzik autonómiájukat, ami egyszerűen belátható a genetika variabilitásnál olykor nagyobb fenotípusok variabilitást létrehozó egyedfejlődési zajra való hivatkozás alapján [14], amiből nyilvánvaló, hogy az organizmusok nem egyszerűen szelektív mechanizmusokon át bujtatott történeti képződmények, hanem önmaguk saját belső irányításuk alapján működő konstruktorai.

A LANDE [13] által kiépített modell-rendszer a többváltozós fenotípusos evolúció leírásában kialakított egy olyan hagyományt, ami első közelítésben a többváltozós fenom evolúciós állapotegyenletében képes bizonyos mértékben figyelembe venni az egyedfejlődési kényszerek evolúciós hatásait, szemben az időben statikus optimalizációs technikákkal.

Bevezethető [35] a fenotípus evolúciós leírásában a genotípus-fenotípus relációt reprezentáló egyedfejlődési mátrix fogalma, amely kvantitatív genetikai nyelvhasználatban a genotípus értékek hatását írja le egy populáció átlagos fenotípusvektorának egy fenotípusán. Miután a genotípus-fenotípus relációk többnyire nemlineárisak és sajnos jórészt ismeretlenek, az empirikusan megragadhatatlan fejlődési mátrixok helyett csak a szeparált genotípusos és fenotípusos variancia-kovariancia mátrixokkal operálhatunk. (Egy valószínűségi vektorváltozó kovariancia mátrixa a komponensek kovarianciájából képzett mátrix.) Ismeretessé vált

[3], hogy a morfológiai integráció leírását tömörítő formális reprezentációs struktúrákként számon tartott genotípusos és fenotípusos kovariancia mátrixok időben változnak, ami az egyedfejlődési kényszerek evolúciós megváltozására utal, és az evolúciós változásban nem véletlen eredetű mutációk és az organizmusokon belül a rajtuk ható stabilizáló szelekció működését jelzik. Az empirikus genotípusos kovariancia mátrixok speciális sajátérték eloszlásai evidenciát sugallnak arra, hogy a kvantitatív tulajdonságok nem randomizált módon szerveződnek [35].

A genotípusok kovariancia mátrixok a sokváltozós fenomevolúció állapotegyenletében olyan rendszerparaméter mátrixként fogható fel, amelyre SILJAK konnektív stabilitási elméletében az állapotegyenletekben a megfelelő analóg rendszerparaméter mátrixra speciális, úgynevezett HICKS-feltételek teljesülnek. Hátra van számos nyitott kérdés eldöntése, hogy pl. a kevés számú empirikus genetikai kovariancia mátrixokon teljesülnek-e a HICKS-feltételek, egyáltalán hogyan tehetők alkalmassá a fenomevolúció állapotegyenletei stabilitásanalízis elvégzésére, ami már e szemle kereteiből formális matematikai stúdiumba vezet át. Az egyedfejlődési integráció vizsgálatába mindenesetre bevonult a mátrixszámítás, ami egykor HEISENBERG kvantummechanikájában is oly termékenynek bizonyult.

Összefoglalás

Vázoltuk az egyedfejlődés evolúciójával foglalkozó ontofiletika tájképének körvonalait. Áttekintettük az evolúciós stabilitás néhány releváns koncepcióját. Konceptcionálisan megkíséreltük összekapcsolni SILJAK konnektív stabilitási elméletét a CUVIER-problémát értelmező organizmikus puffervezényekkel és az integrált organizmikus transzformációval.

Sugalmazzuk, hogy hierarchikus perspektívában az organizmikus szinten manifesztálódó evolúciós változás szükséges feltétele a reakciónormák átmeneti instabilitása az egyes szerveződési szintek rétegein kaszkádszerűen működve, melyek alternatív stabilis állapotokban kanalizálódhatnak megváltozott geometriai alakzatokban.

IRODALOM

1. ALBERCH, P., GOULD, S. J., OSTER, G. F. and WAKE, D. B. (1979) Size and shape in ontogeny and phylogeny. *Paleobiology*, **5**, 296–317.
2. BONNER, J. T. (ed.) (1982) *Evolution and development*. Springer, New York, 3.
3. CHEVERUD, J. M. (1984): Quantitative genetics and developmental constraints on evolution by selection *J. Theor. Biol.*, **110**, 155–171.
4. ÉRDI P. (1982) Hierarchikus rendszerek termodinamikája. *Magyar Tudomány*, **1982/9**, 113–120.
5. GEIGER, G. (1983) On the dynamics of evolutionary discontinuities. *Math. Biosci.*, **67**, 59–79.
6. GOODWIN, B. C., HOLDER, N. and WYLIE, C. (1983) *Development and evolution*. Cambridge Univ. Press, Cambridge.
7. GOULD, S. J. (1980) Is a new and general theory of evolution emerging? *Paleobiology*, **6**, 119–130.
8. HOFFMAN, A. (1982) Punctuated versus gradual mode of evolution: A reconsideration. *Evol. Biol.*, **15**, 411–436.
9. JACOB, F. (1977) Evolution and tinkering. *Science*, **196**, 1161–1166.
10. KARLIN, S. (1984) Mathematical models, problems and controversies of evolutionary theory. *Bull. Amer. Math. Soc.*, **10**, 221–273.
11. KATZ, M. J. (1983) Ontophylogenics; studying evolution beyond the genome. *Persp. Biol. Med.*, **26**, 323–333.
12. LADDE, G. S. (1976) Cellular systems — I. Stability of chemical systems. *Math. Biosci.*, **29**, 309–330.
13. LANDE, R. (1979): Quantitative genetics analysis of multivariate evolution. *Evolution*, **33**, 402–416.

14. LEWONTIN, R. C. (1983) The organism as the subject and object of evolution. *Scientia*, **118** 65—82.
15. MAYNARD SMIDT, J. (1983): The genetics of stasis and punctuation. *A. Rev. Genet.*, **17**, 11—25.
16. MOLNÁR I. (1984) Evolúció és egyedfejlődés. In: VIDA G. (szerk.): *Evolúció IV.* (megjelenés alatt)
17. MOLNÁR, I. (1984) On the geometry of reaction norms. In: NOVÁK, V. J. A. (ed.): *Evolution and morphogenesis* Plzen, CSAV
18. OISON, E. C. and MILLER, R. L. (1958) *Morphological integration*. Univ. of Chicago Press, Chicago
19. PATTEE, H. H. (1973) *Hierarchy theory*. George Braziller, New York
20. PIMM, S. L. (1984) The complexity and stability of ecosystems. *Nature*, **307**, 321—326.
21. RAFF, R. A. and KAUFMAN, T. C. (1983) *Embryos, genes and evolution*. MacMillan, New York
22. RENDEL, J. M. (1967) *Canalization and gene control*. Logos Press, London
23. RIEDL, R. (1978) *Order in living organisms*. Wiley, New York
24. SEVECOV, A. S. (1982) Selection towards the increase in reaction norm. In: NOVÁK, V. J. A. (ed.): *Evolution and environment*. CSAV, Praha 165—173.
25. SILJAK, D. D. (1978) *Large scale dynamic systems. Stability and structure*. North Holland, New York
26. SILJAK, D. D. (1983) Complex dynamic systems: dimensionality, structure and uncertainty. *Large-Scale Systems*, **4**, 279—294.
27. SIMON H. (1982) *Korlátozott racionalitás*. Közgazdasági és Jogi Kiadó, Budapest
28. SLACK, J. M. W. (1983) *From egg to embryo*. Cambridge Univ. Press, Cambridge
29. STEBBINS, G. L. (1983) Mosaic evolution: an integrating principle for the modern synthesis. *Experientia*, **39**, 823—834.
30. SZENTÁGOTHAJ, J., and ÉRDI, P. (1983) *Outline of a general brain theory*. KFKI, Budapest, 117.
31. THOM, R. (1983) *Mathematical models of morphogenesis*. Ellis. Horwood, Halted
32. VARELA, F. J. (1979) *Principles of biological autonomy*. North Holland, New York
33. WADDINGTON, T. H. (1957) *The strategy of gene*. Allen and Unwin, London
34. WILEY, E. O., and BROOKS, D. L. (1982) Victims of history — a nonequilibrium approach to evolution. *Syst. Zool.*, **31**, 1—24.
35. WAGNER, G. P. (1985): On the eigenvalue distribution of genetic and phenotypic dispersion matrices: Evidence for a nonrandom organization of quantitative character variation. *J. Math. Biol.* (megjelenés alatt).
36. YATES, F. E. (1982) Outline of a physical theory of physiological systems. *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, **6**, 217—248.

ON THE INTEGRATED DEVELOPMENTAL TRANSFORMATION

Molnár, I.

Loránd Eötvös University Department of Genetics, Budapest, Hungary

This writing tries to follow up the secret of a central enigma in biology: Why is the Earth inhabited by integrated creatures able to evolve and endowed with a coherent organization instead of figures from HYERONYMUS BOSCH's world of phantasy, which is a rather artistic null-hypothesis of a possible theory of organisms?

The landscape of ontophyetics is drafted, starting from the cardinal CUVIER-problem, pressing the significance of the hierarchical perspective.

Some arguments for the possible connection between SILJAK's connective stability and the integrated organismic evolutionary transformation is presented.

It is suggested, that the necessary conditions for the evolutionary change manifesting at the organismic level are the transient instability in the reaction norms, working in a cascade-like way throughout the special organizational levels. The reaction norms can be canalized in alternative stable states, in definite changed geometric shape. Operational analytic tools (expansion and contraction of reaction norms) concerning the investigation of complex reaction norms is outlined.

VÍRUSMUTÁNSOK JELLEMZÉSE ÉS FELHASZNÁLÁSUK A VÍRUSOK BIOLÓGIÁJÁNAK KUTATÁSÁBAN

ONGRÁDI JÓZSEF

Semmelweis Orvostudományi Egyetem Mikrobiológiai Intézete, Budapest

Kulcsszavak: vírusmutánsok, indukció, komplementálás, rekombináció, sejt-transzformálás, molekuláris patogenezis

Beérkezett: 1984. június 20-án

Bevezetés

A populációt alkotó különféle genetikai adottságú egyedek közül a nagy többségtől leginkább eltérők vizsgálata számos tulajdonság megismerésével járhat. Éppen ezért az utóbbi negyedszázadban a virológia második forradalmát jelentette az egyes szerotípusok vad törzseitől valamilyen lényeges tulajdonságban eltérő mutánsok felismerése, mesterséges előállítása és biológiájuk tisztázása.

A mutánsok kiválóan alkalmasak a vírusreplikáció mechanizmusának és e folyamat regulációjának tanulmányozására [22, 109], még olyan esetekben is, amelyekben a biokémiai vagy más módszerek nem voltak sikeresek. Így például számos vírus esetében a strukturális alkotóelemek, genetikai markerek, egyes replikációs lépések jól ismertek, mégis a szabályozás pontos sorrendje, a gazdasejt DNS-, RNS- és fehérjeszintézisének szelektív gátlása csakis mutánsok segítségével volt legalább részben megismerhető [90]. A mutánsok hiányzó vagy megváltozott tulajdonságaiból ugyanis következtetni lehet az eredeti törzs megfelelő funkcióira [97]. Végső soron ezek megismerése vezet el az akut vírusfertőzések, a víruslatencia megértéséhez [34], valamint daganatok esetében a sejt vírus okozta regulációs zavarainak felderítéséhez [35, 45, 64]. A vírus—sejt kapcsolat tisztázása során számos normális sejtfunkcióra vonatkozó ismereteink is bővültek [35]. Vírusmutánsok felhasználásával olyan sejtmutánsok is felismerhetőkké váltak, amelyeket morfológiai vagy biokémiai alapon ma még nem lehet megkülönböztetni [27]. Ennek pedig a daganat-kemoterápia „személyre szóló” megválasztásában már ma is gyakorlati jelentősége lehetne.

Történelmi áttekintés

1961-ben figyelték meg, hogy a *lambda-fágot* csak bizonyos baktérium-törzsek képesek replikálni [10], nem sokkal később pedig, hogy bizonyos *T4D fágok* csak meghatározott hőmérsékleten replikálódva okozzák a baktériumok feloldódását [20]. Az előbbi fágokat szenzitív vagy nonszensz („értelmetlen”), az utóbbiakat „conditional lethal” (azaz „feltételesen halálos”), majd „temperature sensitive”, *ts.* azaz hőérzékeny elnevezéssel illették [109]. Az állati vírusok

mutánsainak nagy részét a 60-as évek közepén izolálták, így elsőként az RNS-tartalmú *Togavírusok* közé sorolt *Sindbis-vírus* mutánsait, majd a *poliovírus* hőérzékeny és gyógyszerrezisztens (drug-resistant) mutánsait [14]. 1969-ben, és nem sokkal utána pedig már összefoglaló munkák jelentek meg a vírusmutánsokról [24, 37]. A 60-as évek második felétől kezdve sorra izolálták az *adenovírusok* mutánsait: 1968-ban a humán 12-es szerotípus (H12) sejtölő (cytotoxic) mutánsát [96], a CELO-vírus, vagyis egy madár-*adenovírus* hőérzékeny mutánsát 1970-ben [54]. A közben kidolgozott és állandóan továbbfejlesztett plakk-teszt segítségével [107] a H5-ös típus [109] és a H12-es típus [62], majd a H31-es típus *ts* mutánsait [93] ismerték meg. 1965-re a *polyoma-vírus ts* mutánsai [31], nem sokkal később gazdaspektrum (host-range, *hr*) mutánsai is nagyrészt ismertté váltak [6]. A *herpes simplex vírus (HSV)* mindkét típusának számos mutánsa lett közismert [17, 89, 100]. Az RNS vírusok közül a *Newcastle disease vírusának (NDV)* mutánsai [34], az influenza vírusok mutánsai [1, 20, 25, 92], a *vezikulás sztomatitisz vírusának (VSV)* számtalan mutánsa [68, 69, 78] és a *száj- és körömfájás vírusának* mutánsai [59] voltak az első fontosabb izolátumok. Ma már kivétel számba megy az olyan vírus, amelynek valamilyen mutánsa ne lenne ismeretes.

Természetes és mesterséges mutációk

Spontán mutánsok keletkezése

Mutánsok spontán is keletkeznek, kb. 10^{-5} — 10^{-6} relatív gyakorisággal, ezeket azonban ritkán sikerül izolálni. Egyes vírusok esetében ennél sokkal gyakoribb is lehet a mutáció: a *VSV* Indiana szerotípusánál 9×10^{-3} — $2,3 \times 10^{-2}$ között változik, de olyan törzset is találtak, melynek esetében a szokásosnál alacsonyabb vagy magasabb hőmérsékleten történő tenyésztéssel a mutációs ráta elérte a 8×10^{-2} relatív gyakoriságot [78]. A régebben izolált spontán mutánsok közül egyeseket mint „attenuált” vírusokat, aktív védőoltásra használták fel. A jelenség lényegét akkor még nem ismerhették, de gyakorlati jelentőségét jól kiaknázták. A *poliomielitisz* oltóanyaga talán a legjobb példa a tudatosan selektált attenuált törzsek felhasználására [28]. Ma már mind a spontán, mind az indukált mutánsok ilyen célú felhasználása széles körű [41, 75].

Indukált mutánsok

A vírusok sorozatos passzálása során különféle spontán mutációk lépnek fel, s ezek egyedei el is szaporodhatnak. Így a populáció igen heterogénné válhat, ezért a mutánsok mesterséges indukálását megelőzően a víruspreparátumot homogénné kell tenni [39]. Ez plakk-tisztítás segítségével történik, s az így nyert vad törzset alkalmas mutagén kezelésnek vetik alá a mutációs ráta növelése érdekében. A mutánsok legtöbbször a hibás bázispárosodások következtében alakulnak ki. Mivel eddig nem ismerünk olyan mutagént, amely egy meghatározott fenotípusú mutánst indukálna [51], ezért ugyanazt a vírus-szuszpenziót különféle mutagének, illetve mutagén kombinációk hatásának érdemes kitenni.

A mutagénnel való kezelésnek alapvetően két módszere ismert (*I. táblázat*):

I. táblázat

Vírusmutánsok előállítása

Table 1. Production of virus mutants

Az indukcióhoz szükséges mutagén		Vírus	Fenotípus	Irodalom
	egyéb feltétel			
Spontán		Adeno A1 Adeno H5 VSV	ts hőstabil pm, ts, hr, Rif ⁺ , rho	39 39 78
Alacsony hőmérséklet		Influenza	ts (cs)	2
UV sugárzás	30–50 mperc	Adeno H5 Adeno H31 VSV	ts ts ts, pm	109 109 78
NaNO ₂ 0,1–0,7 M	pH 4–4,6 5–10 perc	NDV Adeno H5 Adeno H5	ts ts hr	76, 88 22, 109 47
HNO ₂ 0,7 M		Adeno H2 Adeno H5 Adeno H12 Adeno H2+ND1	ts ts ts hr ts (összeépülési) ts	39 39 39 39 10 109
NH ₂ OH × HCl 1,0 M 2,0 M	pH 7,4	VSV Adeno H5 Adeno H12	ts, cd ts ts	78 22, 39, 109 39
BUdR 5 µg/ml 15–30 µg/ml	pH 6,0 4–6 óra 48 óra 120 óra	NDV Adeno H5 HSV-2 Adeno H5 Adeno H12	ts hr ts ts ts	88 39 100 39, 109 39
5-fluoro-uracil 25–100 µg/ml	40 óra	Vaccinia Influenza VSV	ts ts ts, tl, hr	21 92 78
Nitrozoguanidin 25 µg/ml 800 µg/ml	30–54 óra 2 óra	Adeno H5 Adeno H12 NDV Adeno H2 Adeno H5 Vaccinia VSV VSV	ts ts ts ts ts ts ts, hr, cd hr	22 61 88 39 39 21 78 86
Nitrozoguanidin 100 µg/ml, majd 5-F-uracil 1mM		VSV	ts	51, 78
Etil-metil-szulfonát		VSV	ts	79
5-azacitidin		VSV	ts	51, 78
Proflavin		SV 40	Bgl I-rezisztens	98, 99
Na-biszulfit		Polyoma	hr	91, 98
ICR-191 1,5–4,5 µg/ml			dl	98

A) *Direkt módszer.* A virion nukleinsavára *in vitro* direkt hatnak egyes mutagének, mint az UV-fény, hidroxilamin, salétromossav. Ezekkel a mutagénekkel a virion szuszpenziót *in vitro* besugározzák, illetve keverik, majd előkísérletekben meghatározott inkubációs idő után fogékony szövetkultúrákban

tesztelik a kezelt vírust [22, 61, 109]. A mutagén kezelés hatására az infektivitás legtöbbször több nagyságrenddel esik [61], viszont a „túlélő” populációban nagyságrendekkel növekszik a mutánsok relatív gyakorisága.

B) *Indirekt módszer, azaz a szövetkultúrákban replikálódó vírus kezelése.* A vírussal előzetesen fertőzött szövetkultúrákat kezelik rövidebb-hosszabb ideig a megfelelő mutagénnel, mint pl. a nitrozoguanidin, bromodeoxiuridin, s ezek a replikáló vírusra hatva eredményezik a mutánsok létrejöttét.

Mutánsok célzott előállítás

Ma már génszabási úton lehetséges bizonyos mutánsok tervszerű, célzott előállítása. A vad törzs vagy akármelyik mutáns tisztított nukleinsavát endonukleázokkal fragmentekre választják szét, majd a szeparált fragmenteket ligázokkal a legkülönbözőbb kombinációkban — a különféle eredetű fragmentumokat használva — összeépítik. Az így átépített nukleinsavval fertőzve a sejteket, olyan mutánsokat keresnek, amelyekből hiányzanak a szokásos nukleinsav-vágási pontok, vagy amelyekből endonukleázokkal történt emésztés után szokatlan fragmentek nyerhetők. Ezzel a módszerrel számos „életképes” deléciós, szubsztitúciós, inszerciós mutáns volt előállítható, de pontmutációk szintén létrehozhatók voltak. Ilyen jellegű mutánsok nemcsak a vad törzsből, hanem egymásból is származtathatók, s így kialakulásuk menete alapján törzsfajra rajzolható [55, 98].

A mutánsok izolálása

A fenti módokon nyert egyes mutánsokat a vad törzstől vagy a különféle mutánsok keverékétől meg kell tisztítani. Ha a mutagén kezelés direkt módon történt (A. eset), a kezelt vírussal történő vírustermelés során a mutánsok is nagyobb mennyiségben nyerhetők, s így lehetővé válik izolálásuk. Ha a mutagén indirekt módon a vírusreplikáció során hatott (B. eset), úgy a vírushozam egy következő passzálása is szükséges a mutánsok megfelelő mértékű reprodukciójához. A szelektálás is legtöbbször plakk-tisztítással történik, amikor is a vírussal fertőzött szövetkultúrákat vékony agarréteggel borítják, majd a vírussal fertőzött körülírt sejthalmazt Pasteur- vagy mikropipetta segítségével kiemelik. Mivel egy plakk feltehetően csak egyetlen infektív virion utódait tartalmazza (klón), a populáció homogénnek tekinthető. Az eljárást többször megismétlik, hogy minél tisztább legyen a referencia törzs-suszpenzió. A tenyésztést a következőkben a szokványos (permisszív), valamint ettől eltérő, gátló (nonpermisszív, restriktív) körülmények (hőmérséklet, kémiai anyagok stb.) között, illetve *hr* mutáció gyanúja esetén a legkülönbözőbb sejtkultúrákban vagy állatfajokban végzik. Így összehasonlító adatokat nyernek arról, hogy a vad törzssel ellentétben milyen körülmények között *nincs vírusreplikáció*, vagy mely *vírushatások maradnak el*, esetleg *változnak meg*. Mivel a mutáció véletlenszerű, ezeket a vizsgálatokat minden egyes plakkból izolált vírustörzssel el kell végezni. Esetenként akár több ezer plakkot is fel kell dolgozni egyetlen mutáns izolálásához — ami jól mutatja, hogy az eljárás mennyire idő- és munkaigényes [39]. Éppen ezért a jól jellemzett mutánsok nagy „értéket” képviselnek [39]. Újabban igyekeznek a szelektálást automatizálni [39].

Egyetlen mutagénnel történő kezelés hatására egyszerre többféle fenotípusú mutáns is létrejöhet, vagyis egy adott esetre nem lehet megjósolni a keletkező mutánsok típusát. Ezért az izolálás, illetve tisztítás kezdeti lépéseiben érdemes több irányban is elindulni. Az is előfordulhat, hogy egyes mutánsokban kétszeres vagy akár többszörös a mutáció. Ezek kiszűrése, felismerése fontos, de többnyire csak részletes genetikai vizsgálatokkal lehetséges [39].

A mutánsok főbb típusai

Fenotípus szerinti felosztás

A mutánsokat vagy legjellemzőbb fenotípusos jegyeik vagy a környezethez való viszonyuk megváltozása alapján szokták felosztani.

A) *Megváltozott fenotípusos jegyek.* Ezeknek jellegzetes esete a mutáns által létrehozott plakkok nagyságának eltérése a vad törzsétől: plakk-alakbeli (plaque morphology, *pm*) mutánsok. Ilyenek az *SV 40* és *adenovírusok* esetében jól ismertek [80]. A *HSV-1* esetében olyan mutánsokat ismerünk, amelyek a vad törzssel (*Syn*⁺) ellentétben nem képesek sejtfúziót indukálni (*Syn*). Ugyanakkor érdekes módon a *HSV-2*-es típusának éppen a vad törzsei nem hoznak létre sejtfúziót, míg mutánsai között vannak ilyen fúzióképző (fusion inducing) vagy szinciciumképző (syncytial) mutánsok [89]. Az *adenovírus* H5-ös típusának esetében leírtak olyan mutánsokat, amelyek nem képesek a fertőzött sejtek lízisére. Ezek a sejtölő (cytotoxic, *cyt*) mutánsok [39]. Ebbe a csoportba sorolhatók továbbá a normális fertőzési folyamat mutánsai, amelyek akár egy azonos vad törzsből származva is különféleké lehetnek, mint *VSV* esetében: „egg invasiveness” (*pr*) vagy „sperm invasiveness” (*V*⁻), „germinal transmission” (*g*⁻), „replication defective” (*rho* és *ultrarho*) mutánsok [78]. Ugyancsak ide oszthatók be a virion-struktúra mutánsai, melyek az *in vitro* behatásokra (akár egyes tisztítási lépésekre) nem a szokásos módon reagálnak [39]. Ilyen pl. a *VSV* egyfajta hőérzékeny (thermolabile, *tl*) mutánsa, amelyben a peplon hőérzékenysége fokozott. Ismerünk az antitestekkel nem a szokásos módon reagáló, bár azonos szerotípusba tartozó mutánsokat is [39].

Egy-egy jól definiált anyagcserelépést érintő mutációk közül legismertebb a *HSV-1* timidinkináz nélküli mutánsa [17], valamint a különböző gátlószerekre rezisztens mutánsok. Ezek közül a gyógyszer-rezisztens (drug resistant) mutánsok orvosi jelentősége ma még alig becsülhető fel. Számuk, sajnos egyre növekszik, és a víruskemoterápia haladásával a továbbiakban is növekedni fog [52, 56]. A *VSV* és a *vaccinia* rifampicin-rezisztens mutánsán kívül [23, 78] *poliovírus* esetében szintén ismert ilyen mutáns [66]. Érdekes azonban, éppúgy mint számos egyéb kórokozónál, hogy egyes szerekkel szemben kialakult rezisztencia növelheti a más anyagok iránti érzékenységet [52].

Olyan mutánsok is léteznek továbbá, amelyeknél a változás természete még nem ismert, s gyakran csak a komplementálás során derül fény a mutáció meglétére. Ezeket ideiglenesen komplementálás-függő (complementation-dependent, *cd*) mutánsoknak nevezik [78].

B) *Gazdaspektrum mutánsok.* Ezek a lényeket tekintve az előző csoporttal rokonságban levő mutánsok, mert elkülönítésük megváltozott fenotípusuk szerint történik. Fő jellemzőjük, hogy a vad törzs normális replikációját bizto-

sító szövetek vagy élőlények (gazdák) közül egy vagy több fajtában, fajban nem képesek replikálódni. Ezért kapták a gazdaspektrum (host-restricted, host-range, *hr*) mutáns elnevezést (egyes esetekben a host-dependent, *hd* jelző is használatos) [29, 47]. *Adenovírus* H5 típusának törzse kitűnően replikálódik HeLa sejt kultúráján, bizonyos *hr* mutánsai pedig nem [47].

A *hr* mutánsok egy másik csoportja nem képes bizonyos jellegzetes vírus-hatások létrehozására, mint pl. a transzformáló hatásukban defektív mutánsok [44, 55] (II. táblázat). Hasonlóan viselkednek a *polyomavírus* „host-range non-transforming” (*hr-t*) mutánsai [19, 30] és a korai gént érintő deléciós (*dl*) mutánsai [45]. Az előbbieket nem transzformált 3T3 sejtvonalon nyerték [91], és érdekes módon ezek a mutánsok egyes egér eredetű sejtekben lízist sem képesek létrehozni [19].

II. táblázat
H5 adenovírus mutánsok transzformálása
patkány embrió sejteken [44]

Table 2. Transformation of rat embryo brain cells by adenovirus H5 mutants [44]

Vírus	Transzformált fókus/üveg
—	0, 0, 0, 0
Vad törzs	7, 3, 7, 6
<i>hr 1</i> mutáns	0, 0, 0, 0
<i>hr 1</i> /revertáns A	5, 2, 3, 6
<i>hr 3</i> mutáns	0, 0, 0, 0
<i>hr 6</i> mutáns	0, 1, 0, 0

Az RNS-vírusok közül a veszettség patogenezisének kutatásában modellként használt *VSV hr* mutánsainak van rendkívüli gyakorlati jelentősége [68, 69].

C) *A környezettől függő mutánsok.* Az előző két csoporttól élesebben elkülöníthetők a bizonyos környezeti feltételek között funkcióképtelen, más szóval a feltételesen halálos mutánsok (conventional conditional lethal mutants). Legfontosabb képviselőik a hőérzékeny (temperature sensitive, *ts*, régebben temperature restricted) mutánsok. Ezek a szokványos (permisszív) hőmérsékleten jól replikálódnak, ami a legtöbb állati vírussal — beleértve a humán patogéneket is — 31–32 °C. Ugyanakkor egy magasabb (restriktív) hőmérsékleten alig vagy egyáltalán nem replikálódnak. A restriktív hőmérséklet az állati vírusok esetében általában 38–41 °C. A két különböző hőmérsékleten keletkező vírusokban legalább 3–5 nagyságrendnyi különbség mutatkozik *adenovírusok ts* mutánsai esetében, míg más vírusoknál ez ennél nagyobb is lehet [78]. A vad törzsek replikációját a magasabb hőmérséklet vagy alig befolyásolja, mint pl. az *adenovírusok* esetében, vagy csak mérsékelten csökkenti [71]. Az egyes vírusfunkciók esetében is hasonló törvényszerűségek mutatkoznak [70, 71]. A restriktív hőmérséklettartomány határai többnyire nagyon szűkek — a H12-es *adenovírus ts* mutánsai esetében pl. csak $\pm 0,3$ °C. Ezt meghaladó ingadozás esetén a mutáció hatása már nem érvényesül, egy látszólagos „áttörés, átcsorogás” (leak) következik be.

A mutánsok egy része permisszív körülmények között is érzékenyebb, lassabban replikálódik, mint a vad törzs [70], és a keletkezett virionokban elektronmikroszkóppal esetenként defektusok mutathatók ki [97].

Ha a *ts* mutáció lényeges lépést érint a replikációban, akkor ez biokémiai-lag *in vitro* is reprodukálható, jellemezhető, mint erre a transzkripcióban vagy a translációban defektív *HSV-2* [63] vagy *VSV* [71] mutánsai utalnak. Az *adenovírus ts* mutánsok között jellegzetesek az egyes vírusantigének termelését érintő mutációk, így ismertek fiber-, hexon-, penton-mutánsok [84]. Igen fontosak még azok a mutációk, melyek hatására restriktív körülmények között a korai antigének termelése folyhat ugyan, de a viriontermelés már elmarad. E mutánsoknak gyakorlati jelentősége lehet az immunizálásban [84].

A *ts* mutáció következtében szintén elmaradhat magasabb hőmérsékleten a sejtre kifejtett valamilyen vírus hatás. Ekkor a jelenséget hőmérsékletfüggőnek (temperature dependent, *td*) nevezik. Így pl. a *Bryan sarcoma vírus ts* mutánsa nem képes sejt-transzformálásra [4].

A mutációt követően egyes törzsek egyidejűleg több fenotípusos változást is mutathatnak, tehát csoportba sorolásuk sem lehet egyértelmű. Nemegyszer előfordul, hogy *hr* mutánsoknál a mutáció csak restriktív hőmérsékleten érvényesül, ilyenkor hőmérsékletfüggő gazdaspektrum mutációról (temperature-dependent host-range, *tdhr*) beszélünk. Ilyen a *VSV* New Jersey szerotípusának egy mutánsa, amely a vad törzshöz hasonlóan BHK-21 sejtekben mind 31 mind 39 °C-on replikálódik, de csirkeembrió-sejtekben csak 31 °C-on [94]. Elnevezésére a „csirkeembrióban szaporodóképtelen mutáns” (host-range in chicken embryo, *hrCE*) helyett célszerűbb a „csirkeembrióban hőmérsékletfüggő szaporodóképtelenség” (temperature dependency in chicken embryo, *tdCE*) kifejezés használata [94].

Egyes *influenza* mutánsok a vad törzssel ellentétben +25 °C-on is képesek replikálódni. Ezek a hideghez adaptálódott mutánsok (cold mutants, cold adapted mutants). Ugyancsak a vad törzssel ellentétben +40 °C-on nem szaporodnak [57], tehát a hagyományos értelemben egyúttal *ts* mutánsok is. Megjegyzendő azonban, hogy e törzseket eredetileg rekombinánsként nyerték, nem pedig közvetlen vagy közvetett mutagenézissel [72]. Az *SV 40* esetében szintén megfigyeltek hasonló jelenséget [27].

D) *Szupresszor szenzitív mutánsok*. A környezettől függő mutánsok másik csoportjába tartoznak a „szupresszor szenzitív” (*sus*) vagy „nonszensz” mutánsok. Ezek mind a DNS-, mind az RNS-tartalmú fágoknál megtalálhatók [9, 39]. Ezen mutánsok bizonyos baktériumtörzsekben nem replikálódnak (az illető baktériumokat szupresszor törzseknek nevezik) [73]. A fágban történt mutáció következtében olyan tripletek képződnek a mRNS-en, amelyek nem kódolnak aminosavakat (UAG, UAA vagy UGA). Így a keletkező fehérje idő előtt, éretlenül válik le a riboszóma komplexről, mint funkcióképtelen termék. Az említett baktérium-törzsekben azonban a bakteriális transzfer-RNS szintén mutáns, ez a nonszensz kodont is értelmesnek ismeri fel, és a szükséges vagy még éppen megfelelő aminosavat épít be [73].

A keletkezett mutánsok valamennyi típusára érvényes, hogy a felismert mutációk mellett ún. másodlagos, nem letális mutációkat is tartalmazhatnak, amelyek a mai ismeretek szerint nem esszenciális funkciókat érinthetnek, mint pl. fehérjék glikozilálása. Az ilyen nehezen felismerhető és vizsgálható „melléktermék” mutánsok kiküszöbölése csak a mutánsok célzott előállításával lesz lehetséges [89].

Genotípus szerinti felosztás

Technikai okokból adódóan a genotípus szerinti osztályozás nehezebben hajtható végre. Legegyszerűbbek itt is az egyes pontmutációk, de sok mutánsról derült ki, hogy kettős vagy akár többszörös pontmutációt hordoznak [39, 86]. A pontmutációval nyert törzsek túlnyomórészt hőérzékeny (*ts*) fenotípust mutatnak.

A másik esetben a vírusgenom nagyobb részét érinti a mutáció: deléció (*dl*), inszerció (*in*), szubsztitúció (*sub*) történt [30, 45, 55, 98]. Az ilyen típusú mutánsok és a defektív partikulák több tulajdonságukban mutatnak rokon vonásokat. Meglepően sok és aránylag nagy területre kiterjedő deléciós mutánst találtak „életképesnek” [90, 98]. Az itt felsorolt mutánsok inkább *hr* jellegűek.

A mutánsok, ha egyáltalán „életképesek”, többnyire stabilak is. Természetesen visszamutálás, revertálás mindig elképzelhető. Az is előfordul, hogy egy mutáns további mutáció révén nyeri vissza a vad törzsrre jellemző fenotípust. A visszaalakult törzseket revertánsoknak nevezik. A revertálás valószínűsége ugyanazon vad törzsből nyert különféle mutánsok esetében is változhat. 10^{-7} körüli relatív gyakoriság kicsinek, 10^{-4} körüli közepesnek, míg az e fölötti gyakorinak tartható [78]. Finomabb módszerekkel az eredeti vad törzs és a revertánsok között gyakran mutathatók ki különbségek [70].

A mutánsok rendszerezése

A mutánsok száma egyre nő, s egy-egy szerotípusnak akár több száz, különféle mutánsa is lehet! Így szükségessé vált csoportosításuk és egyértelmű, lehetőleg tömör jelölésük. A legtöbb vírus mutánsai esetében a kódok kidolgozása a 70-es évek közepén történt. Eleinte a mutáns fenotípusának rövidítése, az előállítási hely városnévének kezdőbetűje, a komplementálási csoportba sorolás betűjele vagy száma, és végül az illető intézetben történt előállítás sorrendi száma alkották a mutáns kódját. Ezt a rendszert ma is használják néhány vírus esetében, mint pl. a *VSV* mutánsainál [15]. A ma leggyakrabban használatos leírást, ill. kódolást először az *SV 40* mutánsok körében [80], nem sokkal később az *adenovírusok* mutánsainál [40] vezették be. Ez az alábbiakat tartalmazza:

1. A vírus neve (melyet a Nemzetközi Vírustaxonomiai Bizottság javasolt).
2. A természetes gazda rövidítése (H = humán, s = simian, A = avian stb.).
3. Szerotípus (arab számmal).
4. A mutáns törzs fenotípusos jellemzője (*ts*, *hr* stb.) Ha többféle is kimutatható egyidejűleg, a legjellemzőbbet vagy az előbb megismertetett kell feltüntetni, a többit pedig utána zárójelben).
5. A komplementációs csoport jele, ahová a mutáns besorolható. A komplementációs és a vele gyakorlatilag egyezést mutató rekombinációs csoportok jele legtöbbször latin nagybetű, mint az *adeno-* és az *orthomyxovírusoknál*. A *VSV* különböző szerotípusainál a *ts* mutánsok komplementációs-rekombinációs csoportjait latin nagybetűkkel, római számokkal vagy a görög ábécé kisbetűivel jelölik [7]. Ma a mutánsok rendszerezésének legáltalánosabban elfogadott módja a jól és áttekinthetően jellemzett komplementációs-rekombinációs csoportokba

történő besorolás. Számos vírus mutánsai esetében igen nagy lehet a komplementációs csoportok száma, ez még tovább nőhet újabb mutánsok — ma már legtöbbször célzott — keresésével.

Ha egy mutáns csoportba sorolhatósága nem ismert még, a betű helyett gondolatjelet kell írni (—), ha pedig a mutáns nem komplementálható másokkal, akkor ezt csillag (*) jelöli. Egyelőre további nehézséget jelent a világ különböző pontjain izolált mutánsok összehasonlítása, egységes csoportosítása.

6. A mutáns előállítási száma. Mivel több helyen is előállítanak ugyanolyan mutánsokat, a számozást is egyértelművé kellett tenni. A kezdeti sorszámokat ugyanabból a vad törzsből mutánsokat előállító kutatók egyezmény szerint felosztották egymás között (*III—IV. táblázat*), bőven hagyva számokat esetleges újabb mutánsaiknak. Ha más is előállít ugyanabból a vad törzsből mutánsokat, a „törzskönyv” kijelölt vezetőjétől kell sorszámokat kérni [40].

III. táblázat

Adenovírusok mutánsainak kezdeti sorszámai

Table 3. Initial block numbers of adenovirus mutants

Szerotípus	Mutáns sorszáma	Leírók
H5	1—99	WILLIAMS, J. F., GHARPURE, M., USTACELEBI, S., McDONALD, S. ENSINGER, M. J., GINSBERG, H. S. TAKAHASHI, M.
	100—199	
	200—299	
H12	1—99	TAKEMORI, N., RIGGS, J. L., ALDRICH, C. D. LUNDHOLM, U., DÖRFLER, W. SHIROKI, K., IRISAWA, J., SHIMOJO, H. GINSBERG, H. S., RUBENSTEIN, F.
	100—199	
	200—299	
	300—399	
H31	1—99	SUZUKI, E., SHIMOJO, H.
A1	1—99	ISHIBASHI, M.

IV. táblázat

SV 40 mutánsok számozása

Table 4. Numbering of simian virus 40 mutants

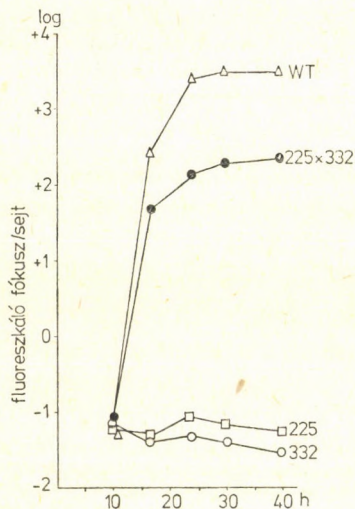
Mutáns száma	Leíró
1—99	TECTMEYER, P. ROBB, J. A. MARTIN, R. G. KIT, S. BUTEL, J. S. YOSHIIKE, K.
100—199	
200—299	
300—399	
400—499	
500—599	

A revertánsok kódolására ugyanezek a szabályok alkalmazhatók, azzal a kiegészítéssel, hogy az eredeti mutáns kódja után /jelkövetkezik, majd R, és végül a revertáns sorszáma. Mivel még az így kialakított leírások is nehézkesek, elegendő egy közleményben a fenotípus rövidítése és a sorszám megadása: *ts19* vagy revertánsoknál *tsB1/R1* [40, 70].

A mutánsok genetikájának vizsgálata

Komplementálás

Azt, hogy két mutáns esetében a mutáció a genom ugyanazon részét érinti-e, komplementálással lehet megállapítani [39]. Az eljárás lényege abban áll, hogy a mutánsokat külön-külön, valamint alkalmas párosításokban együtt is tenyésztik, mind permisszív, mind nonpermisszív körülmények között. Így állapítják meg, hogy mely párok tudják egymás károsodását kiegészíteni, illetve melyek nem. Ez utóbbiak tartoznak azonos komplementációs csoportba.



I. ábra. Komplementálás két hőérzékeny H5 adenovírus mutáns (ts225, ts332) között [22]

Fig. I. Complementation between two mutants (ts225, rs332) of adenovirus type H5 [22]

A nonpermisszív körülmények között keletkezett virionok mennyiségét permisszív körülmények között titrálják [39, 84], és a víruspárt akkor tekintik egymást komplementálónak, ha a kettős inokulummal nyert vírushozam nagyságrendekkel meghaladja az egyes inokulummal nyerhető (*I. ábra*). A vírushozamot restriktív körülmények között is kell titrálni az esetleges reverzió vagy a vad törzssel történt szennyeződés kizárására [39, 84]. A komplementálást alacsony multiplicitású fertőzéssel érdemes végezni, mert a virion hozam így relatíve nagyobb [61]. Titrálásra minden esetben olyan módszert kell választani, amely matematikailag egzakt módon értékelhető. A *herpesvírusok* esetében a fertőzött góccokat számlálják (infectious centre assay, [100]), de leghelyesebben a plakk-számlálás alkalmazható [110]. A komplementálás hatásfokát a komplementálási index jelzi:

$$\frac{\text{Restriktív körülmények közötti együttes virionhozam}}{\text{Restriktív körülmények között külön-külön nyert virionhozam}}$$

H5 adenovírus *ts2* és *ts14* mutánszárnál, ill. a *ts2* és *ts4* mutánszárnál talált $1,2 \times 10^3$, ill. $1,1 \times 10^6$ komplementációs index jelzi az idetartozó mutánsok szélső értékeit [110].

A komplementálás lényegében bizonyos enzimek kölcsönzését jelenti [78]. A biológiai aktivitás a különböző eredetű, működőképes génproduktumok, fehérjék nem kovalens kölcsönhatásaként áll helyre, anélkül, hogy DNS- vagy RNS-rekombináció történt volna [74]. A komplementálás intercisztronos, ha két különböző cisztron által meghatározott polipeptid lánc egészíti ki vagy helyettesíti egymást funkciójában [74]. Az ilyen mutánsok ugyanabba a komplementálási csoportba tartoznak. Intracisztronos (régebben „intragén” [92]) a komplementálás, ha ugyanannak a cisztronnak alléljai által meghatározott fehérjék komplementálják egymást [74]. Ebben az esetben egy azonos komplementálási csoporton belül is történhet (bár gyengébb) komplementálás [78], végső soron a genom funkcionálisan elkülöníthető alegységei ezen a módon meghatározhatók. Intracisztronos komplementálást a H2 adenovírus hexondefektív *ts3* és *ts4* mutánsai között mutattak ki [74].

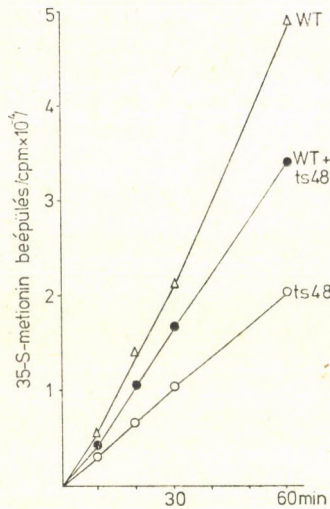
A komplementálás kimenete független a vírustermelésre használt, permisszív sejttypustól (minden vagy semmi törvénye). A sejtplazmában replikálódó vírusok, mint a *Rhabdovírusok*, sikeresen komplementálhatók enukleált sejtekben is [78], sőt *in vitro* komplementálás is lehetséges, megfelelő pufferoldatokban a tisztított, szeparált majd a legkülönbözőbb kombinációkban újra összeépített virion polipeptidekkel, ill. nukleinsav felhasználásával [70, 71].

A komplementálás elsősorban a *ts* mutánsok jellemzésére alkalmas, de sikeresen használták *hr*, *tdCE*, *hrCE* mutánsok csoportosítására [78]. Tudunk továbbá a *hr* és *ts* mutánsok [78], valamint a *polyomavírus* esetében *hr-t* és *ts* mutánsok közötti sikeres komplementálásról [19]. A komplementálás az ugyanazon szerotípusból izolált különböző mutánsok között a legeredményesebb [30, 47, 83]. Egyes vírusok eltérő szerotípusainak mutánsai között is lehetséges a komplementálás. Ennek mértéke jól követi a szerológiai rokonságot — ez egyszer a jelenség molekuláris magyarázatát is meg fogja adni [78]. Az *adenovírusok* szerotípusainak csoportosítása főleg onkogén potenciáljuk alapján történik (A-tól F csoportig). A C-csoportba tartozó, gyenge onkogenitású H2 és H5-ös típus *ts* mutánsai között sikeres komplementálást igazoltak [10]. Ugyanakkor a különböző onkogenitású szerotípusok közötti komplementálási vizsgálatok jó lehetőséget kínálnának a közöttük levő funkcionális eltérések meghatározására [39]. Ismerte az *adenovírusok* eukarióta sejtekre kifejtett reguláló szerepét, e jelenségnek az onkogenezis megvilágításában lehet szerepe. Más vírusoknál, mint pl. a *VSV*, egyes szerotípusok mutánsai között nem lehetett számottevő komplementálást kimutatni. Ilyen esetekben valószínűleg a vírusinterferencia játszhat közre [78].

A keletkezett utódvírusokban fenotípus keveredés is megfigyelhető, ami a komplementálás kölcsönösségére utal [78]. *Adenovírus* hexon-, illetve fiber-mutánsainak komplementálásakor érdekes módon az utódvírusokban csak a vad típusú hexon és fiber jelent meg [74]. Ugyanakkor a *poliovírus* bizonyos mutánsainak komplementálásakor csak az egyik kiindulási vírus replikálódott, vagyis a komplementálás aszimmetrikus, egyoldalú volt. Ennek oka a nem replikálódó mutáns poliprotein prekursorának érésében fellépett blokk volt [66].

A komplementálás során a mutáns olykor domináns lehet a vad törzzsel szemben, mint erre a T4D fág [7], valamint a H2 adenovírus *ts48* mutánsa [11], és egyes *polyoma hr* mutánsok [30] szolgáltatnak példát. Hasonló jelenség

kimutatható fejlettebb biológiai struktúrákban is, mint pl. a *Drosophila melanogaster* esetében [50]. Az adenovírus említett mutánsa nemcsak komplementálási csoportba nem sorolható, de gátolni képes a vad törzs normális replikációs folyamatában a virionösszeépülést (2. ábra). A gátlás mértéke egyébként a két törzsből származó polipeptidek mennyiségével sztöchiometrikusan arányos [48]. A komplementálás során a két vírustörzs bevitt mennyisége változtatható. Nagy multiplicitásnál a sejt vírusspecifikus termékeket képző kapacitásának határához közeledik, s ekkor a sejtben levő esszenciális funkciókért versengés indul meg [9]. Ilyenkor a keletkezett termékek mennyiségi aránya tükrözi az



2. ábra. ts48 mutáns dominanciája H2 adenovírus vad törzse fölött, a fehérjeszintézis alapján [11]

Fig. 2. Dominance of mutant ts48 over H2 adenovirus wild type, on the base of protein synthesis [11]

eredetileg bevitt allélok arányát és jellegét. Az ilyen gén-dózis kísérletek alkalmazásuk lehetnek tehát annak eldöntésére, hogy bizonyos gének termékeinek szerepe katalitikus-e — mint pl. bizonyos vad törzsek enzimeit, vagy sztöchiometrikus — mint egyes virion struktúr-fehérjék. Hasonlóképpen lehet kimutatni a mutánsok gátló funkciójú termékeit is. A mutánsok segítségével így a géntermékek szabályozó szerepét tanulmányozni lehet [30, 70].

Komplementálásnak lehet felfogni azokat az eseteket is, amelyekben egy vírussal transzformált sejt ugyanazon vírusnak abban a sejtben egyébként szaporodóképtelen mutánsát képes replikálni, mivel vírusspecifikus funkció van jelen a transzformált sejtben. Az adenovírus H5 szerotípusának egyes hr mutánsai jól replikálódnak humán embrió vese eredetű (HEK), ugyanezzel a vírusszerotípussal korábban transzformált (293 jelű) sejtekben. A 293 jelű sejtek az adenovírus genomjának bal végéről származó 11%-nyi fragmentet tartalmaznak. A mutánsok azonban nem replikálódnak sem az eredeti, transzformálatlan HEK-sejtekben, sem a KB sejtekben, sem a más daganatból

származó HeLa-sejtekben [47]. *Adenovírusok* egyes *ts* mutánsai sikeresen komplementálhatók bizonyos rosszindulatú húgy-ivarszervi daganatok sejtjeivel (ONGRÁDI és munkatársai, leírás kéziratban). Ugyancsak komplementálásnak fogható fel az is, ha a tumorkeltésre a vad törzs UV-inaktivált formáját és egy mutánt együttesen használnak fel, mint azt a *HSV-2* esetében tették [64].

Az, hogy egy vad törzs mutánsai hány komplementálási csoportba oszthatók, illetve egy ilyen csoportban hány mutáns van, nem lehet véletlen. A vírusfehérjék domain részében ugyanis a mutációk következtében számos aminosav cserélhető ki anélkül, hogy permisszív körülmények között funkciócsökkenés lenne kimutatható. Nonpermisszív körülmények között a mutáció hatása viszont érvényesül. Azonos régióban történt aminosavcserét hordozó mutánsok ugyanabba a komplementációs csoportba tartoznak [53, 78]. Ugyanakkor a különféle vírusok eltérő fehérjei esetén is nagymértékben különböznek a normális funkciók kifejtéséhez szükséges domain régiók, s ez tükröződik az egy komplementálási csoportba tartozó mutánsok számában [89]. A *H5 adenovírusnak* csak a hőérzékeny mutánsai 17 [29], a *HSV-1*-éi 23 [8, 89], a *HSV-2*-éi pedig 20 csoportba sorolhatók. A komplementálási csoportok további jegyek figyelembevételével osztályokba sorolhatók [29]. *Adenovírusok* hőérzékeny mutánsainak itt említett 17 csoportja 6 osztályba tartozik. Főbb tulajdonságait az *V. táblázat* mutatja.

V. táblázat
5-ös típusú adenovírusok *ts* mutánsainak fenotípusos csoportosítása
Table 5. Phenotypic grouping of *ts* mutants of adenovirus type 5

Osztály	Komplementálási csoportok száma	Jellemzők		Típusmutánsok
		DNS	Fehérjék	
I	4	+	Kapszid-antigének keletkeznek	<i>ts18, ts19, ts24, ts135</i>
II	2	-	Kapszid-antigének nem termelődnek	<i>ts36, ts37, ts125</i>
III	3	+	Fiber-defektív	<i>ts5, ts9, ts22, ts142</i>
IV	4	+	Hexon-defektív	<i>ts17, ts20, ts116</i>
V	2	+	Hexon-transzport abnormalis	<i>ts1—ts4, ts10, ts147</i>
VI	2	+	?	<i>ts49</i>

Rekombináció

A rekombináció alapja a szubgenomikus egységek kicserélődése. Természeteszerűleg a szegmentálatlan genommal rendelkező vírusoknál ez korlátozottabb, mint azoknál, amelyek genomja egymástól függetlenül replikálódó darabokból áll [66]. Rekombinánsokat eleinte csak egyidejű komplementálással sikerült nyerni, emiatt ezeket az első időkben multiploid partikuláknak, vírusaggregátumoknak tartották. A rekombinánsok nem is bizonyultak mind stabilnak. Hamarosan azonban számos egyszálú, egyetlen RNS molekulából álló vírusgenom — *VSV* [78], *száj- és körömfájás vírusa, poliovírus* [66] — esetében minden kétséget kizáróan bebizonyították az RNS-szál törésével, majd újra-

egyesítésével járó mechanizmusát. A *poliovírus* mutánsok eredeti törzseinek és a rekombinánsok fehérjéit tripszinnel és más proteolitikus enzimekkel kezelték, majd a keletkezett fragmentumokat elektroforézis során szétválasztották. Ezzel a „fingerprint” analízissel meg lehetett állapítani, hogy az 1-es, ill. a 3-as szerotípusból nyert intertípusos rekombináns kapszidfehérjéi a 3-as szerotípusból származtathatók, míg a nem strukturális polipeptidek fragmentjeik tulajdonságai alapján az 1-es szerotípusával egyeztek [66]. A rekombinációs kísérletek kezdetén szintén nehézséget jelentett a sejtből a citoplazmamembránon lefűződéssel kiszabaduló vírusok gyakori heteroploiditása (*NDV* esetében például), és a genom újrendeződése a szegmentált vírusoknál, mint az *influenzavírus* [22] esetében.

A rekombinációs kísérletek során a két mutánssal külön-külön, illetve együttesen is fertőznek szövettényezeteket. A permisszív körülmények között termelődött virionhozamot mind a permisszív, mind restriktív körülmények között titrálják, a rekombinánsok ez utóbbi körülmények között is replikálódnak, s kialakulásuk relatív gyakoriságát a rekombinációs frekvenciával (r. f.) mérik, melyet %-ban fejeznek ki [39]:

$$\frac{\text{Restriktív körülmények között nyert titer}}{\text{Permisszív körülmények között nyert titer}} \times 100$$

A kapott eredményt egyes esetekben még 2-vel megszorozzák, annak feltételezéseként, hogy reciprok rekombinánsok egyenlő mennyiségben vannak jelen [22, 39, 47].

A rekombinációs kísérletekben alacsony multiplicitással — 2—15 PFU/sejt — történik a fertőzés, mert ilyenkor várható a legnagyobb rekombinációs frekvencia [61, 66]. H5 *adenovírus* mutánsai esetében a rekombinációs frekvenciát 7,6%-nak találták, míg a H12-es típusnál 13,6—17,7% között változott [61, 110]. *VSV* esetében az r. f. értékek 0,2—2,3% között mozogtak [78], *reovírus* mutánsainál 3—50% között [26], míg az *influenzavírus* egyes hőérzékeny mutánsaival történt rekombináció esetében 0,43—16,8% közötti értéket találtak. Ez utóbbi esetében észlelt 39-szeres eltérést részben a 39,5 °C-on történő plakk-számlálás pontatlanságában vélték megtalálni [92]. Az eltérés másik oka a víruspreparátumokban jelenlevő, nem infektiós partikulák nagy száma lehet, ugyanis ezek is részt vehetnek egyes genotípusos és fenotípusos kölcsönhatásokban [92]. Az *influenzavíruson* kívül *adenovírus* mutánsok vizsgálata során is felmerült ez a probléma [22]. A titrálás során nagyszámú, a restriktív körülmények között nyert plakkot vizsgálnak tovább, s a rekombinánsokat további három plakk-tisztítási lépésnek vetik alá [61].

A rekombinánsok elemzése során a mutációk helye valószínűsíthető a géntérképen. Minél kisebb két mutáns rekombinációs frekvenciája, annál közelebb esnek a mutációk egymáshoz a genomban [39]. Az is eldönthető, hogy a mutáns fenotípust egyetlen bázispár cseréje okozta-e, valamint hogy a mutáció fenotípusos kifejeződése pleiotrop-e [39]. Az r. f. értékek elemzésével elvégezhető volt a fenotípusos jelleg és a genotípus, valamint a fizikális és a géntérkép összehasonlítása [5, 108]. Így derült ki, hogy a korai és a késői vírusfunkciók a géntérképen nem két különálló részen vannak kódolva, ugyanakkor az egyes fenotípusokat meghatározó gének is több részből állnak. Így pl. az *adenovírus* egyik fő polipeptidjének, a hexonnak is legalább három részből áll a génje [39]. A H5 *adenovírus* hr1 és hr2 mutánsai nem rekombinálódnak a

dl312-es mutánssal, míg a *hr6* és *hr7* nem rekombinálható a *dl313* és a *dl315* mutánsokkal [36]. A *dl311* és *dl312* mutánsok károsodását aránylag könnyen sikerült a fizikális térkép 1,3—3,7 koordinátái közé lokalizálni, míg a *dl313* és *dl315* mutánsokét a 6,0—8,5 koordináták közé. A rekombináció sikertelenségéből valószínűsíthető, hogy az előbb említett *hr* mutánsok károsodása is az 1,3—3,7, illetve a 6,0—8,5 koordináták közé esik.

A rekombináció a vírusreplikáció korai szakaszában történik, az *influenzavírusnál* a fertőzést követő 5—12. óra között [92]. Mivel a rekombinációs frekvencia azonos komplementációs csoportba tartozó mutánsok esetében a mérhető 0,01% alatt van, a komplementálási csoportok egyben rekombinációs csoportok is. A rekombináció során a minden vagy semmi törvénye érvényesül [92]. A komplementálást fokozhatja a rekombináns genom korai megjelenése [82], de a komplementálás természetesen rekombináció nélkül is végbemegy.

Nemcsak azonos, hanem eltérő fenotípusú mutánsok között is lehet rekombinációt létrehozni. A *hr* × *dl* mutánsokkal történt vizsgálatokon kívül [36] ismertek a *ts* × *hr* rekombinánsok is [47, 110]. A rekombináció különböző szerotípusok mutánsai között is sikeres lehet, mint azt a *HSV* 1-es és 2-es típusának rekombinánsai esetében látjuk [12, 77, 101]. Mivel a *herpeszvírusok* között több olyan mutáns ismert, amely különféle kemoterápiás szerekre rezisztens, elképzelhetőnek látszik polirezisztens rekombináns törzsek kialakulása természetes körülmények között is. Egyelőre azonban a rezisztencia jellegének tanulmányozása folyik a mutánsok felhasználásával [49].

A H5 és H2⁺ND1 *adenovírusok* mutánsainak rekombinánsai is genetikailag stabilak, utódok reprodukcióját hozzák létre [102]. A rekombinánsokban levő, eltérő szerotípusú fehérjék jól tanulmányozhatók megfelelő monospecifikus antitestekkel. Ezek segítségével állapították meg például, hogy *adenovírusok* három fő polipeptidje közül a fiber a fő neutralizálható antigén. A polipeptidek vizsgálatára szívesen használják a már korábban említett „fingerprint” analízist [77]. A nukleinsav elemzésére pedig SOUTHERN „blotting” technikáját alkalmazzák [77, 104]. A vírustörzsekből endonukleázok segítségével nyert, jelzetlen DNS fragmentumokat agargél-elektroforézissel szeparálják, majd a gélről nitrocellulóz lapra viszik át. A rekombinánsok DNS-ét izotóppal jelzik, endonukleázokkal ugyanúgy fragmentumokra bontják, majd a nitrocellulóz lapon az egyes fragmentek a homológ, szülői DNS-hez kötődnek. A lekötődött, jelzett DNS autoradiográfiával láthatóvá tehető. Ezzel az eljárással megállapítható, hogy a rekombinánsban levő különböző DNS-szakaszok melyik mutánsból erednek, meghatározható a kereszteződési pontok helye és száma. Megállapították továbbá a kicserélődött gén orientációját is [77].

A különböző vírusok közötti rekombináció ismert példái az *adenovírus-SV 40* hibridek [102]. Az *adenovírus* H2⁺ND sorozatába (1-től 5-ig) tartozó, *hr* jellegű mutánsok és az *SV 40* nondefektív alakjai e vírusok géntérképezésében, a keletkezett hibrid RNS és hibrid fehérjék mindkét vírus metabolizmusára és ennek szabályozására, valamint a vírus DNS és a fertőzött sejtek közötti kölcsönhatásra vonatkozóan felbecsülhetetlen értékű információt nyújtottak [46].

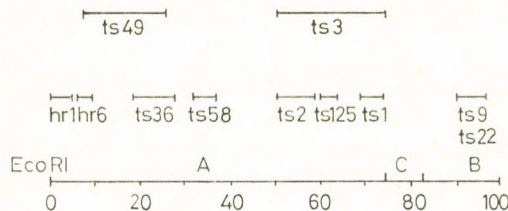
A mutánsok rekombinálásával genetikailag stabil vírusok hozhatók létre [72, 111], ezek azonban nemcsak a vad törzsre jellemző fenotípust, hanem újabb mutáns fenotípust is mutathatnak. Elképzelhető, hogy ilyenkor a különböző szülőkből származó polipeptidek kölcsönhatása gyengébb, vagy a kereszteződési pont elhelyezkedéséből következően a szülőkéttől egyaránt eltérő, hibrid

fehérje kevésbé funkcióképes. Az sem zárható ki, hogy a hibrid géntermékek rosszabbul kötődnek a rekombináns nukleinsavhoz [77]. Az is előfordulhat, hogy a translációt irányító gén egy része cseerélődik ki [77].

Marker rescue („jelleg-szöktetés”)

Az eljárás a rekombinációból származtatható, s technikáját a $\Phi X 174$ fággal kapcsolatos kísérletekben alkalmazták először. A vad törzs DNS-éből fragmenteket vágnak ki endonukleázokkal, majd tisztítás után a jól ismert nukleinsav-szakaszt bejuttatják a sejtbe. Ezzel egyidejűleg a mutánsból nyert tisztított, ép DNS-t is ugyanazokba a sejtekbe kell bejuttatni. A módszer úgy is alkalmazható, hogy az egyik mutánsból nyert DNS-fragmentumot egy másik mutáns teljes DNS-ével együtt juttatják a sejtekbe. Az utóbbi esetben az eljárást „intertypic” jelzővel illetik, míg az előbbi az „intratypic” marker rescue [104]. Az eljárás során a nukleinsavakat először hibridizálni szokták, majd ezzel fertőzik a recipiens sejteket [3]. Nonpermisszív körülmények között működőképes utódok csak a vad törzs megfelelő génjének beépülése révén jöhetnek létre [104]. Az ismert fragmentek segítségével a mutáció helye fizikálisan térképezhető. Vad törzset eredményező rekombinánsok létrejöttéhez relatíve kis területen kell csak inszerciónak végbemennie [104], és egy meghatározott mutációt mindig csak ugyanaz a fragment képes kiegészíteni [33].

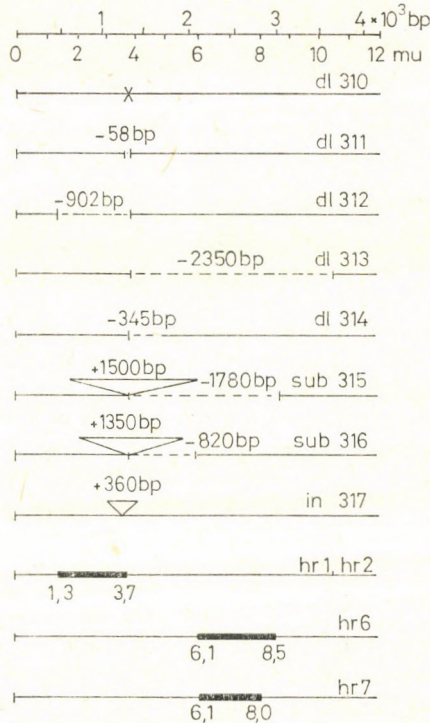
A HSV 1-es és 2-es típusának 35 rekombinánsát 7 féle restrikciós endonukleáz emésztéssel nyert DNS-fragmentumokkal sikerült feltérképezni [13]. Az adenovírusok pedig arra szolgáltattak példát, hogyan sikerült egy adott mutáció helyét egyre kisebb területre lokalizálni (3. ábra). A H5-ös típus *ts2* mutánsában a hexon gént érintő mutációt először egy nagyobb fragment segítségével a 44—59 koordináták közé lokalizálták. Más endonukleázokkal nyert átfedő fragmentekkel sikerült bizonyos területeket kizárni, így a lokalizációt az 50—60 térképpontok közé szűkíteni, egyéb módszerekkel a mutációt az 52—62 pontok közé lehetett szorítani, végül a kölcsönös kizárások alapján jelenleg az 52—59 pontok között levőnek tartják. Más adenovírus polipeptideket érintő mutációkat is ugyanígy sikerült meghatározni [33]. A H2 adenovírus IX. polipeptidjét érintő mutáció a biológiai tulajdonságok alapján korai funkciókat befolyásol, de a mutáció helye a késői régiókban van (a 9,4—11,1 pontok között), és ezen a területen egy ugráló RNS araszol [65]. A génműködés sorrendjének felismerésében ma a legfontosabb gyakorlati feladat a gének regulálásának pontos ismerete, mert ez közelebb vihet a vírusok daganatkeltő szerepének megértéséhez [35, 64, 90]. Ilyen vizsgálatokra alkalmasak a korai-késői átmenetekre eső deléciós mutánsok, mint pl. a *polyoma vírus* [45] és



3. ábra. Mutációk elhelyezkedése H5 adenovírus fizikális térképén [29, 33]
Fig. 3. Location of mutations on the physical map of adenovirus type H5 [29, 33]

adenovírusok [90] egyes mutánsai, valamint a vírus DNS-szintézis iniciálásában defektív korai mutánsok [103].

Az *adenovírus* H2 és H5 szerotípusának számos *ts* mutánsa ismeretes, de egy sincs köztük olyan, amelyben a mutáció a genom bal végének 8%-ára lokalizálódna. Ez a rész felelős a sejt transzformációjának iniciálásáért és fenntartásáért [42, 55]. Az erre a területre eső mutációk mind *hr* fenotípust eredményeznek (4. ábra) [40], ami a sejt és a vírus egyenrangú szerepét bizo-



4. ábra. Mutációk elhelyezkedése H5 adenovírus genom bal végi 12%-án (bp = bázispár, mu = koordináták) [29, 36, 55]

Fig. 4. Locations of the mutations on the left 12% of the type H5 adenovirus genome (bp = base pair, mu = map unit) [29, 36, 55]

nyítja a transzformációban. Ezek a mutánsok feltehetően egyetlen bázispár megváltozásának eredményei, s két komplementálási csoportba sorolhatók. Marker rescue kísérletekkel bizonyították, hogy az egyik csoport mutációi a 0—4,5 térképegységek közé, a másik csoporté a 0—24 egységek közé lokalizálhatók [33]. A transzformációban defektív mutánsok vizsgálata során derült ki, hogy ez a rész kódolja a T-antigént is. Ugyanis a H5-ös típusú *adenovírus ts36* mutánsában a károsodás a 0—30 térképkoordináták közé esik, és a vad típus *HpaI* C fragmentjének alkalmazásával (4—24 pontok közé eső szakasz) vad fenotípust nyertek [3].

A marker rescue eljárást számos DNS-vírus mutánsai vizsgálatára alkalmazták már, a legfontosabbak közül csak az *SV 40* [58], a *polyoma vírus* [67],

a *HSV* mindkét típusa [2, 12, 104, 105, 106] szolgáljon itt bizonyítékkal. A kísérleteket nagyon megnehezíti, hogy a tisztított DNS infektivitása kicsi, és könnyen áldozatul esik nukleázok hatásának [35, 43, 60]. A marker rescue pontos mechanizmusa sem ismert. Elképzelhető a rekombinációhoz hasonló crossing over, bár ez ellen szól, hogy a kicserélődött DNS-szakaszok hossza nagyon különböző lehet [13]. Az eljárás hatékonyabb a genom végeiről származó fragmentekkel, mint a belsőekkel. A magyarázat az lehet, hogy az inszercióhoz az előbbiekkal csak egy crossing over szükséges, míg az utóbbiakkal kettő. Az is feltűnő, hogy a különböző nagyságú fragmentek beépülése nem egyforma hatásfokú. Elképzelhető a fragmenteket primerként felhasználó DNS-szintézis, de létrejöhet a DNS-szakaszok keveredése a DNS-javító funkció (repair) során is. A marker rescue során nyert rekombinánsok között heterozigótákat is megfigyeltek, például a *ts* fenotípust kódoló gén elvesztése nélküli *ts*⁺ fenotípust [13]. *Hr adenovírus* fragment beépítésével ugyancsak nyertek *ts*⁺ fenotípust [33].

A mutánsok szerepe a vírus-patogenezis molekuláris alapjainak megismerésében

A vírusfertőzések patogenezisében egyre nagyobb jelentőséget tulajdonítanak a vírusfehérjéknek. Ma már a virionok struktúrféhrjéit sem tekintik a nukleinsavat passzívan védő rendszereknek, mert a tapasztalatok szerint ezek is különböző biológiai funkciókkal rendelkeznek. E polipeptideknek a mutációk következtében kialakult konfigurációváltozásai bizonyos funkciók elvesztéséhez vezetnek, amint azt a *HSV* [16], az *adenovírusok* [82, 84] és a *VSV* [69] esetében kimutatták. A megváltozott polipeptid ráadásul a degradációnak is könnyebben áldozatul esik [84].

Fontos felismerés volt az is, hogy a fehérjék enzimtevékenységének szabályozása lehetséges aránylag egyszerű módokon is, mint pl. a foszforilálás-defoszforilálás, és ez technikailag is aránylag könnyen nyomon követhető [70, 97]. Bizonyos vírusmutánsok, amelyeknél a mutáns fehérje a konfigurációváltozás miatt nem foszforilálódik normálisan, alkalmasak a vírusfertőzések időbeli lefolyásának vizsgálatára [81], valamint a vírusfertőzésekben szerepet játszó egyes celluláris tényezők megismerésére [1, 68]. Más biológiai hatások közül feltétlenül érdemes külön megemlíteni, hogy a H5-ös *adenovírus ts18* és *ts19* mutánsai, amelyekben szintén egyes strukturális fehérjék foszforilálási zavara áll fenn, nem indukálnak interferonképződést [97].

Egyes vírusfunkciókban számos vírusspecifikus, nem strukturális vírusfehérje is szerepet játszik. A vírusbetegségek egyes tünetei és valószínűleg a sejttanszformáció is ezekre vezethető vissza. Ezek a fehérjék kis mennyiségben keletkeznek és aránylag rövid ideig működnek. *Polyoma vírus hr* mutánsokkal állapították meg, hogy a sejttanszformáláshoz legalább 8, a korai régiókról származó polipeptid szükséges. Ezek egy része a transzformáció iniciálásában, másik része a transzformált állapot fenntartásában vesz részt [44].

IRODALOM

1. ALEXANDROVA, G. I., DEKHTYAREVA, N. I., MEDVEDEVA, T. E. and SCHNEIDER, M. A. (1982) Correlation between reproductive and interfering activities of epidemic and thermosensitive influenza virus strains. *Acta Virol.*, **26**, 113–118.

2. ALEXANDROVA, G. I. and SMORODINTSEV, A. A. (1965) Obtaining of an additionally attenuated vaccinating cryophil influenza strain. *Rev. roum. d'Inframicrobiol.*, **2**, 179—186.
3. ARRAND, J. (1977) Analysis of adenovirus mutants using DNA infection techniques. In: *Tumor virus meeting on SV 40, polyoma and adenoviruses*. Abstracts. Cold Spring Harbor, 72.
4. BADER, J. P. (1972) Temperature dependent transformation of cells infected with a mutant of BRYAN ROUS sarcoma virus. *J. Virol.*, **10**, 267—276.
5. BÉGIN, M. and WEBER, J. (1975) Genetic analysis of adenovirus type 2. I. Isolation and genetic characterization of temperature-sensitive mutants. *J. Virol.*, **15**, 1—7.
6. BENJAMIN, T. L. (1970) Host-range mutants of polyoma virus. *Proc. nat. Acad. Sci.*, **67**, 394—399.
7. BERNSTEIN, H. and FISCHER, K. M. (1968) Dominance in bacteriophage T4D. *Genetics*, **58**, 307—318.
8. BONE, D. R. and COURTNEY, R. J. (1974) A temperature-sensitive mutant of Herpes simplex virus type 1 defective in the synthesis of the major capsid polypeptide. *J. gen. Virol.*, **24**, 17—21.
9. BUCHAN, A., LUFF, A. and WALLIS, C. (1970) Failure to demonstrate the interaction of subunits of thymidine kinase in cells simultaneously infected with herpes virus and a kinaseless mutant. *J. gen. Virol.*, **9**, 239—242.
10. CAMPBELL, A. (1961) Sensitive mutants of bacteriophage λ . *Virology*, **14**, 22—32.
11. CARSTENS, E. B., MAGNAN, J. and WEBER, J. (1979) A dominant temperature-sensitive assembly mutant of adenovirus type 2. *Canad. J. Microb.*, **25**, 646—649.
12. CARSTENS, E. B. and MARUSYK, R. G. (1977) Crystallization and reaggregation of adenovirus type 5 structural components from infected cell extracts. *J. gen. Virol.*, **34**, 541—545.
13. CHARTRAND, P., STOW, N. D., TIMBURY, M. C. and WILKIE, N. M. (1979) Physical mapping of *pad'* mutations of Herpes simplex virus type 1 and type 2 by intertypic marker rescue. *J. Virol.*, **31**, 265—276.
14. COOPER, P. D. (1969) The genetic analysis of poliovirus. In: LEVY, H. B. (ed.): *The biochemistry of viruses*. Marcel Dekker, New York, 177—208.
15. CORMACK, D. V., HOLLOWAY, A. F. and PRINGLE, C. R. (1973) Temperature-sensitive mutants of vesicular stomatitis virus, homology and nomenclature. *J. gen. Virol.*, **19**, 295—300.
16. DARGAN, D. and SUBAK-SHARPE, J. H. (1983) Ultrastructural characterization of HSV-1 (strain 17) temperature-sensitive mutants. *J. gen. Virol.*, **64**, 1311—1326.
17. DUBBS, D. R. and KIT, S. (1964) Mutant strains of herpes simplex deficient in thymidine kinase-inducing activity. *Virology*, **22**, 493—502.
18. ECKHART, W. (1969) Complementation and transformation by temperature-sensitive mutants of polyoma virus. *Virology*, **38**, 120—125.
19. ECKHART, W. (1977) Complementation between temperature-sensitive (ts) and host-range nontransforming (hr-t) mutants of polyoma virus. *Virology*, **77**, 589—597.
20. EDGAR, R. S. and LIELAULIS, I. (1964) Temperature-sensitive mutants of bacteriophage T4D: their isolation and genetic characterization. *Genetics*, **49**, 649—662.
21. ENSINGER, M. J. (1982) Isolation and genetic characterization of temperature-sensitive mutants of vaccinia virus WR. *J. Virol.*, **43**, 778—790.
22. ENSINGER, M. J. and GINSBERG, H. S. (1972) Selection and preliminary characterization of temperature-sensitive mutants of type 5 adenovirus. *J. Virol.*, **10**, 328—339.
23. ESSANI, K. and DALES, S. (1983) Biogenesis of vaccinia: Analysis by three-factor crosses reveals mutual influence on stability of drug-resistance and temperature sensitivity when both markers occur in some recombinant virus isolates. *Intervirology*, **20**, 101—107.
24. FENNER, F. (1969) Conditional lethal mutants of animal viruses. *Curr. Top. Micro. Immunol.*, **48**, 1—28.
25. FENNER, F. and SAMBROOK, J. F. (1964) The genetics of animal viruses. *Ann. Rev. Microbiol.*, **18**, 47—94.
26. FIELDS, B. and JOKLIK, W. K. (1969) Isolation and preliminary genetic and biochemical characterization of temperature-sensitive mutants of reovirus. *Virology*, **37**, 335—342.
27. FISCHER-FANTUZZI, L. and VESCO, C. (1982) Cold-sensitive growth of SV 40 in semipermissive variants of CV1 cells. *J. Virol.*, **43**, 791—799.
28. FISZMAN, M., REYNIER, M., BUCCHINI, D. and GIRARD, M. (1972) Thermosensitive block of the SABIN strain of poliovirus type 1. *J. Virol.*, **10**, 1143—1151.
29. FLINT, S. J. (1981) Structure and genomic organization of adenoviruses. In: TOOZE, J. (ed.): *DNA tumor viruses*. Cold Spring Harbor Laboratory, New York, 383—441.
30. FLUCK, M. M., STANELONI, R. J. and BENJAMIN, T. L. (1977) Hr-t and ts-a: two early gene functions of polyoma virus. *Virology*, **77**, 610—624.

31. FRIED, M. (1965) Cell-transforming ability of a temperature-sensitive mutant of polyoma virus. *Proc. nat. Acad. Sci.*, **53**, 486—491.
32. FROST, E. and WILLIAMS, J. (1977) Mapping temperature-sensitive and host-range mutants of adenovirus type 5 by marker rescue. In: *Tumor virus meeting on SV 40, polyoma and adenoviruses*. Abstracts. Cold Spring Harbor, 108.
33. FROST, E. and WILLIAMS, J. (1978) Mapping temperature-sensitive and host-range mutations of adenovirus type 5 by marker rescue. *Virology*, **91**, 39—50.
34. FURMAN, P. A. and HALLUM, J. V. (1973) RNA dependent DNA polymerase activity in preparations of a mutants of Newcastle disease virus arising from persistently infected L cells. *J. Virol.*, **12**, 548—557.
35. GALLIMORE, P. H. and WILLIAMS, J. (1982) An examination of adenovirus type 5 mutants for their ability to induce group C adenovirus tumor-specific transplantation antigenicity in rats. *Virology*, **120**, 146—156.
36. GALOS, R. S., WILLIAMS, J., SHENK, T. and JONES, N. (1980) Physical location of host-range mutations of adenovirus type 5 deletion and marker-rescue mapping. *Virology*, **104**, 510—513.
37. GHENDON, Y. Z. (1972) Conditional lethal mutants of animal viruses. *Progr. Med. Virol.*, **14**, 68—122.
38. GHENDON, Y. Z. and MARKUSHIN, S. G. (1980) Studies on mutation lesions and physiology of fowl plague Virus ts mutants. *Phil. Trans. R. Soc. Lond.*, **m 288**, 383—392.
39. GINSBERG, H. S. and YOUNG, C. S. H. (1976) Genetics of adenoviruses. *Adv. Cancer Res.*, **23**, 91—130.
40. GINSBERG, H. S., WILLIAMS, J. F., DOERFLER, W. H. and SHIMIJO, H. (1973) Proposed nomenclature for mutants of adenoviruses. *J. Virol.*, **12**, 663—664.
41. GLÜNDER, G. and KALETA, E. F. (1978) Temperature-dependent multiplication *in vitro* of avian herpesviruses used as vaccines against MAREK's disease in chickens. In: *11th meeting of the European Tumor Virus Group*. Abstracts. Balatonfüred, 35.
42. GRAHAM, F. L., ABRAHAMS, P. P. J., MUELDER, C., HENNEKER, H. L., WARNAAR, S. O., DE VRIES, F. A. J., FRIERS, W. and VAN DER EB, A. J. (1974) Studies on *in vitro* transformation by DNA and DNA fragments of human adenoviruses and Simian Virus 40. *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.*, **39**, 637—650.
43. GRAHAM, F. L. and VAN DER EB, A. J. (1973) A new technique for the assay of infectivity of human adenovirus 5 DNA. *Virology*, **52**, 456—467.
44. GRAHAM, F. L., HARRISON, T. and WILLIAMS, J. (1978) Defective transforming capacity of adenovirus type 5 host-range mutants. *Virology*, **86**, 10—21.
45. GRIFFIN, B. E. and MADDOCK, C. (1978) Mutants and variants of polyoma virus. *11th meeting of the European Tumor Virus Group*. Abstracts. Balatonfüred, 56.
46. GRODZICKER, T. (1981) Adenovirus-SV 40 hybrids. In: TOOZE, J. (ed.): *DNA tumor viruses*. Cold Spring Harbor Laboratory, New York, 577—614.
47. HARRISON, T., GRAHAM, F. and WILLIAMS, J. (1977) Host-range mutants of adenovirus type 5 defective for growth in HeLa cells. *Virology*, **77**, 319—329.
48. HASSELL, J. and WEBER, J. (1978) Genetic analysis of adenovirus type 2. VIII. The physical locations of temperature sensitive mutations. *J. Virol.*, **28**, 671—678.
49. HAY, J. and SUBAK-SHARPE, J. H. (1976) Mutants of herpes simplex virus types 1 and 2 that are resistant to phosphomonoacetic acid induce altered DNA polymerase activities in infected cells. *J. gen. Virol.*, **31**, 145—148.
50. HOLDEN, J. J. and SUZUKI, D. T. (1973) Temperature-sensitive mutations in *Drosophila melanogaster*. XII. The genetic and developmental effects of dominant lethals on chromosome 3. *Genetics*, **73**, 445—458.
51. HOLLOWAY, A. F., WONG, P. K. Y. and CORMACK, D. V. (1970) Isolation and characterization of temperature-sensitive mutants of vesicular stomatitis virus. *Virology*, **42**, 917—926.
52. HONNESS, R. W., PURIFOY, D. J. M., YOUNG, D., GOPAL, R., CAMMACK, N. and O'HARE, P. (1984) Single mutations at many sites within the DNA polymerase locus of Herpes simplex viruses can confer hypersensitivity to aphidicolin and resistance to phosphomonoacetic acid. *J. gen. Virol.*, **65**, 1—17.
53. HUANG, A. S. (1982) Significance of sequence rearrangements in a Rhabdovirus. *ASM News*, **48**, 148—151.
54. ISHIBASHI, M. (1970) Isolation of temperature-sensitive conditional lethal mutants of an avian adenovirus (CELO), and localization of viral antigen in cells infected with them. *Biken's Journal*, **13**, 59—62.
55. JONES, N. and SHENK, T. (1979) Isolation of adenovirus type 5 host range deletion mutants defective for transformation of rat embryo cells. *Cell*, **17**, 683—689.

56. KAPLAN, L. M., ARIGA, H., HURWITZ, J. and HORWITZ, M. (1979) Complementation of the temperature-sensitive defect in H5ts125 adenovirus DNA replication *in vitro*. *Proc. nat. Acad. Sci.*, **76**, 5534—5538.
57. KENDALL, A. P., KILEY, M. P. and MAASSAB, H. F. (1973) Comparative studies of wild type and "cold-mutant" (temperature-sensitive) influenza viruses: Polypeptide synthesis by an Asian (H2N2) strain and its cold-adapted variant. *J. Virol.*, **12**, 1503—1511.
58. LAI, C.-J. and NATHANS, D. (1974) Mapping temperature-sensitive mutants of simian virus 40: rescue of mutants by fragments of viral DNA. *Virology*, **60**, 466—475.
59. LAKE, J. and MACKENZIE, J. S. (1973) Improved technique for the isolation of temperature-sensitive mutants of foot-and mouth disease virus. *J. Virol.*, **12**, 665—668.
60. LASSAM, N. J., GRAHAM, F. L. and BAYLEY, S. T. (1977) Production of viral-specific proteins by host-range mutants of adenovirus type 5. In: *Tumor virus meeting on SV 40, polyoma and adenoviruses*. Abstracts. Cold Spring Harbor, 109.
61. LEDINKO, N. (1974) Temperature-sensitive mutants of adenovirus type 12 defective in viral DNA synthesis. *J. Virol.*, **14**, 457—468.
62. LUNDHOLM, U. and DOERFLER, W. (1971) Temperature-sensitive mutants of human adenovirus type 12. *Virology*, **45**, 827—829.
63. MACNAB, J. C. M. (1974) Transformation of rat embryo cells by temperature-sensitive mutants of herpes simplex virus. *J. gen. Virol.*, **24**, 143—153.
64. MACNAB, J. C. M. and NIELSON, K. (1978) The continuing expression of HSV-2 information in cell lines cultured from rats bearing tumours induced by HSV-2 transformed cells. In: *11th meeting of the European Tumor Virus Group*. Abstracts. Balatonfüred, 41.
65. MATHEWS, M. B. and PETTERSON, U. (1977) The gene for polypeptide IX. In: *Tumor virus meeting on SV 40, polyoma and adenoviruses*. Abstracts. Cold Spring Harbor, 88.
66. MELNICK, J. L. (1983) Portraits of viruses: the Picornaviruses. *Intervirology*, **20**, 61—100.
67. MILLER, L. K. and FRIED, M. (1976) Construction of the genetic map of the polyoma genome. *J. Virol.*, **18**, 824—832.
68. MORRONGIELLO, M. P. and SIMPSON, R. W. (1979) Conditional lethal mutants of vesicular stomatitis virus. IV. RNA species detected in nonpermissive cells infected with host-restricted mutants. *Virology*, **93**, 506—514.
69. OBIESKI, J. F. and SIMPSON, R. W. (1974) Conditional lethal mutants of vesicular stomatitis virus. II. Synthesis of virus specific polypeptides in nonpermissive cells infected with "RNA-" host-restricted mutants. *Virology*, **57**, 369—377.
70. ONGRÁDI J. and SZILÁGYI J. F. (1981) The role of the L and NS polypeptides in the transcription by vesicular stomatitis virus New Jersey serotype. In: BISHOP, D. H. L. and COMPANS, R. W. (eds): *The replication of negative strand viruses*. Elsevier North Holland Inc., Amsterdam, 837—844.
71. ONGRÁDI J., SZILÁGYI J. F. and CUNNINGHAM, C. (1984) Vizsgálatok a vesiculás stomatitis vírusa (VSV) egyes hőérzékeny mutánsainak fehérjéről. *Magyar Állatorvosok Lapja*, **39**, 113—115.
72. PALESE, P., RACANIELLO, V. R., DESSELBERGER, U., YOUNG, J. and BAEZ, M. (1980) Genetic structure and genetic variation of influenza viruses. *Phil. Trans. R. Soc. Lond.*, **B 288**, 299—305.
73. PENNINGTON, T. H. and RITCHIE, D. A. (1975) *Molecular Virology*. Chapman and Hall Ltd., London, 45—46.
74. PLAAT, D. and WEBER, J. (1979) Intercistronic complementation between adenovirus 2 temperature-sensitive mutants. *Virology*, **98**, 55—62.
75. POLEZHAEV, F. I., GARMASHOVA, L. M., KOVAL, T. A., TARANOVA, G. P., TOPURIYA, N. V. and ALEXANDROVA, G. I. (1982) Attenuated ts-recombinants of influenza A/USSR/77 cold-adapted donor A/Leningrad/134/57 (H2N2) virus. *Acta Virol.*, **26**, 221—226.
76. PREBLE, O. T. and YOUNGNER, J. S. (1973) Selection of temperature-sensitive mutants during persistent infection: role in maintenance of persistent Newcastle disease virus of L cells. *J. Virol.*, **12**, 481—491.
77. PRESTON, V. G., DAVISON, A. J., MARSDEN, H. S., TIMBURY, M. C., SUBAK-SHARPE, J. H. and WILKIE, N. M. (1978) Recombinants between herpes simplex virus types 1 and 2: analysis of genome structures and expression of immediate early polypeptides. *J. Virol.*, **28**, 499—517.
78. PRINGLE, C. R. (1977) Genetics of Rhabdoviruses. In: FRAENKEL-CONRAT, H. and WAGNER, R. R. (eds): *Comprehensive virology*. Vol. 9, Plenum Press, New York—London, 239—289.
79. PRINGLE, C. R. and WUNNER, W. H. (1973) Genetic and physiological properties of temperature-sensitive mutants of Cocal virus. *J. Virol.*, **12**, 677—683.

80. ROBB, J. A., TECTMEYER, P., MARTIN, R. G. and KIT, S. (1972) Proposal for a uniform nomenclature for simian virus 40 mutants. *J. Virol.*, **9**, 562—563.
81. RUSSEL, W. C. and BLAIR, G. E. (1977) Polypeptide phosphorylation in adenovirus-infected cells. *J. gen. Virol.*, **34**, 19—35.
82. RUSSEL, W. C., HAYASHI, K., SANDERSON, P. J. and PEREIRA, H. G. (1967) Adenovirus antigens — a study of their properties and sequential development in infection. *J. gen. Virol.*, **1**, 495—507.
83. RUSSEL, W. C., NEWMAN, C. and WILLIAMS, J. (1972) Characterization of temperature-sensitive mutants of adenovirus type 5 — serology. *J. gen. Virol.*, **17**, 265—279.
84. RUSSEL, W. C., SKEHEL, J. J. and WILLIAMS, J. F. (1974) Characterization of temperature-sensitive mutants of adenovirus type 5: synthesis of polypeptides in infected cells. *J. gen. Virol.*, **24**, 247—259.
85. SIMPSON, R. W. and HIRST, G. K. (1968) Temperature-sensitive mutants of influenza A virus: Isolation of mutants and preliminary observations on genetic recombination and complementation. *Virology*, **35**, 41—49.
86. SIMPSON, R. W. and OBIESKI, J. F. (1974) Conditional lethal mutants of vesicular stomatitis virus. I. Phenotypic characterization of single and double mutants exhibiting host restriction and temperature sensitivity. *Virology*, **57**, 357—368.
87. SIMPSON, R. W., OBIESKI, J. F. and MORRONGIELLO, M. P. (1979) Conditional lethal mutants of vesicular stomatitis virus. III. Host-range properties, interfering capacity and complementation patterns of specific *hr* mutants. *Virology*, **93**, 493—505.
88. SMITH, W. and PARSELL, Z. (1977) Temperature-sensitive and other mutants of the Essex 70 strain of Newcastle disease virus as vaccines. *J. gen. Virol.*, **34**, 47—60.
89. SPEAR, P. G. and ROIZMAN, B. (1981) Herpes simplex viruses. In: TOOZE, J. (ed.): *DNA tumor viruses*. Cold Spring Harbor Laboratory, New York, 615—745.
90. SPECTOR, D. J., HALBERT, D. N. and RASKAS, H. J. (1980) Regulation of integrated adenovirus sequences during adenovirus infection of transformed cells. *J. Virol.*, **36**, 860—871.
91. STANELONI, R. J., FLUCK, M. M. and BENJAMIN, T. L. (1977) Host-range selection of transformation-defective *hr-t* mutants of polyoma virus. *Virology*, **77**, 598—609.
92. SUGIURA, A., TOBITA, K. and KILBOURNE, E. D. (1972) Isolation and preliminary characterization of temperature-sensitive mutants of influenza virus. *J. Virol.*, **10**, 639—647.
93. SUZUKI, E. and SHIMOJO, H. (1971) A temperature-sensitive mutant of adenovirus 31, defective in viral DNA replication. *Virology*, **43**, 488—494.
94. SZILÁGYI, J. F. and PRINGLE, C. R. (1975) Virion transcriptase activity differences in host-range mutants of vesicular stomatitis virus. *J. Virol.*, **16**, 927—936.
95. TAKEMORI, N. (1972) Genetic studies with tumorigenic adenoviruses. III. Recombination in adenovirus type 12. *Virology*, **47**, 157—167.
96. TAKEMORI, N., RIGGS, J. L. and ALDRICH, C. (1968) Genetic studies with tumorigenic adenoviruses. I. Isolation of cytotoxic (cyt) mutants of adenovirus type 12. *Virology*, **36**, 575—586.
97. TARODI, B., BLAIR, G. E., REKOSH, D. M. K. and RUSSELL, W. C. (1979) Characterization of two temperature-sensitive mutants of adenovirus type 5. *J. gen. Virol.*, **43**, 531—540.
98. TECTMEYER, P. (1981) Genetics of SV 40 and polyoma virus. In: TOOZE, J. (ed.): *DNA tumor viruses*. Cold Spring Harbor Laboratory, New York, 297—338.
99. TECTMEYER, P. (1981) Genetics of SV 40 and polyoma virus. Supplement. In: TOOZE, J. (ed.): *DNA tumor viruses*. Cold Spring Harbor Laboratory, New York, 338a—d.
100. TIMBURY, M. C. (1971) Temperature-sensitive mutants of Herpes simplex virus type 2. *J. gen. Virol.*, **13**, 373—376.
101. TIMBURY, M. C. and SUBAK-SHARPE, J. H. (1973) Genetic interactions between temperature-sensitive mutants of types 1 and 2 Herpes simplex virus. *J. gen. Virol.*, **18**, 347—357.
102. WEBER, J. and HASSELL, J. (1977) Mapping of adenovirus 2 mutants and structural genes. In: *Tumor virus meeting on SV 40, polyoma and adenoviruses*. Abstracts. Cold Spring Harbor, 97.
103. WEINGÄRTNER, B., REITER, T. and WINNACKER, R. L. (1977) Two terminal initiation sites for adenovirus type 2 DNA replication. In: *Tumor virus meeting on SV 40, polyoma and adenoviruses*. Abstracts. Cold Spring Harbor, 118.
104. WILKIE, N. M., DAVISON, A., CHARTRAND, P., STOW, N. D., PRESTON, V. G. and TIMBURY, M. C. (1979) Recombination in Herpes simplex virus: Mapping of mutations and analysis of intertypic recombinants. *Cold Spring Harbor Symposium on Quantitative Biology*. Vol. **43**, 827—839.
105. WILKIE, N. M., MARSDEN, H. S., STOW, N. D., PRESTON, V. and TIMBURY, M. C. (1978) Recombination analysis of herpes simplex types 1 and 2, and mapping of polypeptides

- on the physical map of the genome. *In: 11th meeting of the European Tumor Virus Group. Abstracts. Balatonfüred, 7.*
106. WILKIE, N. M., USTACELEBI, S. and WILLIAMS, J. F. (1973) Characterization of temperature-sensitive mutants of adenovirus type 5: nucleic acid synthesis. *Virology*, **51**, 499—503.
 107. WILLIAMS, J. F. (1970) Enhancement of adenovirus plaque formation on HeLa cells by magnesium chloride. *J. gen. Virol.*, **9**, 251—255.
 108. WILLIAMS, J. F. (1973) Oncogenic transformation of hamster embryo cells *in vitro* by adenovirus type 5. *Nature*, **243**, 162—163.
 109. WILLIAMS, J. F., GHARPURE, M., USTACELEBI, S. and McDONALD, S. (1971) Isolation of temperature-sensitive mutants of adenovirus type 5. *J. gen. Virol.*, **11**, 95—101.
 110. WILLIAMS, J. F. and USTACELEBI, S. (1971) Complementation and recombination with temperature-sensitive mutants of adenovirus type 5. *J. gen. Virol.*, **13**, 345—348.
 111. YOUNG, C. S. H. and WILLIAMS, J. F. (1975) Heat stable variant of human adenovirus type 5: Characterization and use in three factor crosses. *J. Virol.*, **16**, 1168—1175.

CHARACTERIZATION OF VIRUS MUTANTS AND THEIR USE IN THE STUDY ON BIOLOGY OF VIRUSES

Ongrádi, J.

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

Virus mutants proved to be extremely useful in the study of virus replication and its regulation in the cell, even in cases not accessible to biochemical or other methods. The most important features of several mutants were established by complementation, recombination and marker rescue techniques. Beside the latent infection and transformation by viruses the most promising field of research is the elucidation of drug resistance. Isolation and use of mutants as vaccines have proved their practical value.

AZ ANTITEST-DIVERZITÁS KIALAKULÁSÁNAK MOLEKULÁRIS BIOLÓGIAI ALAPJAI

MINÁROVITS JÁNOS

Országos Közegészségügyi Intézet, Mikrobiológiai Kutatócsoport, Budapest

Béérkezett: 1984. június 25-én

Kulcsszavak: antitest-diverzitás, immunglobulin gének, minigén, B sejt ontogenezis

Az antitest-repertoire keletkezésének elméletei

A gerincesek immunrendszerének számos paradox sajátossága van. Specifikusan képes reagálni például bármely nem saját antigénre, köztük szintetikus molekulákra is, amelyek nem fordulnak elő a természetben, s amelyekkel a különböző gerinces állatfajok bizonyára nem találkoztak evolúciójuk során. Ezt nevezik az immunrendszer előrelátó vagy prométheuszi működésének [12]. A következő paradoxon az, hogy az emlősök antitest-repertoire-ja becslések szerint 10^6 — 10^8 különböző immunglobulin molekulából áll. Hogyan lehetséges az ezeket a fehérjéket kódoló hatalmas génkészlet kialakulása? Továbbá: nyilvánvalóan nincs szükség ennyi antitestre ahhoz, hogy egy immunrendszer látszólag minden antigént felismerjen. Az ebihal mintegy 10^6 nyiroksejtje hozzávetőlegesen 10^4 féle antitestet termel, de minőségileg ugyanolyan humorális immunválaszra képes, mint a körülbelül 5×10^8 nyiroksejttel rendelkező egér. A különbség csak a reakció intenzitásában van, nem a termelt antitestek heterogenitásában [17].

Számos elmélet született az immunrendszer anticipáló, előrelátó sajátosságának és az antitestkötőhelyek sokféleségének magyarázatára [6, 7, 10, 14, 15, 18, 26, 30, 47—49, 58; összefoglaló művek: 7, 21, 24]. Ezek az elméletek két alapvető szempont szerint rendezhetők:

1. milyen szerepet tulajdonítanak az antigénnek az immunválaszban;
2. milyen szinten generálódik az antitestek sokfélesége (*I. táblázat*).

Az instrukciós teóriák szerint az antitestek szintézise az antigén induktív hatására kezdődik el. Úgy vélik, hogy az antigén templátként viselkedik, mintegy instrukciót adva a nyiroksejteknek a megfelelő, azaz komplementer kötőhellyel rendelkező ellenanyagok létrehozásához. Egy másik elképzelés szerint az antigén az immunglobulin molekula több lehetséges harmadlagos konformációja közül a vele komplementer térszerkezet stabilizálását segíti elő. Az antitest-repertoire tehát epigenetikusan, a transláció szintjén vagy azt követően generálódik. A szelekciós teóriák szerint viszont az antigén strukturális információjától függetlenül képződnek az immunglobulinok, az antigén szerepe a hozzá affinis immunglobulin receptort hordozó sejtek szaporodásának szelektív serkentése vagy a legaffinisabb antitestek szintézisének stabilizálása. ANTOINE DANCHIN elképzelése szerint [14] egy adott nyiroksejtben folyamatosan ugyanaz az immunglobulin gén íródik át, mégis különféle antitestek termelődnek poszttranszkripciósi módosulások következtében. Így módosulhat az RNS szer-

I. táblázat
Az antitest-képződés elméletei

A változatoság kialakulásának szintje	Az antigén szerepe	
	Instrukció	Szelekció
Epigenetikus (RNS, protein)	F. BREINL, F. HAUROWITZ 1930 S. MUDD 1932 J. ALEXANDER 1932 L. PAULING 1940 K. LANDSTEINER 1945 F. M. BURNET, F. FENNER 1949 F. HAUROWITZ 1952, 1962 D. H. CAMPBELL 1957 R. S. SCHWEET, R. D. OWEN 1957 A. H. COONS 1957 F. KARUSH 1958, 1962	A. DANCHIN 1979
Genetikus (DNS)		P. EHRLICH 1900 N. K. JERNE 1955 D. W. TALMAGE 1957 F. M. BURNET 1957 Öröklött immunglobulin gének L. SZILÁRD 1960 W. J. DREYER, J. C. BENNETT 1965 Szomatikus mutációk J. LEDERBERG 1959 S. BRENNER, C. MILSTEIN 1966 Szomatikus rekombinációk G. M. EDELMAN, J. A. GALLY 1967 T. T. WU, E. A. KABAT 1970 J. D. CAPRA, T. J. KINDT 1975 E. A. KABAT, T. T. WU, H. BILOFSKY 1979 O. SMITHIES 1965, 1967

kezete például azért, hogy különböző szakaszok kivágódnak belőle; vagy a transláció során keletkeznek variáns fehérjék azért, hogy peptidil-t RNS-ek segítségével oligopeptidek inzertálódnak a hipervariábilis régióknak megfelelő területekre. Az epigenetikus szinten generált ellenanyag-variánsok közül az antigén a hozzá legaffinisabb szintézisét stabilizálja.

A genetikus teóriák szerint az antitestet kódoló gének sokfélesége vagy sokfélévé válása képezi az immunglobulinok diverzitásának alapját. Ezek az elméletek három fő csoportba sorolhatók: 1. A „germline” teória szerint az összes antitest-kódoló gén jelen van már az ivarsejtek genomjában; feltételezik, hogy a különböző géntípusok génkettőződéseket követő mutációk és génkonverziók révén alakultak ki az evolúció során. 2. A szomatikus mutációk elmélete szerint az öröklött immunglobulin gének a nyiroksejtekben mutációk

révén diverzifikálódnak. 3. A szomatikus rekombinációk elmélete szerint pedig az antitesteket kódoló génszakaszok a nyiroksejtek differenciálódása során átrendeződnek, s kombinációik alakítják ki az adott egyed antitest-repertoire-ját kódoló génkészletet.

A genetikus elméletek feltételezik az antigén szelektív szerepét az immunválaszban, tudomásunk szerint nem publikáltak az antigénnek instruktív szerepet tulajdonító genetikus teóriát.

A génszébszeti módszerek, valamint a fehérje és DNS szekvenciálás alkalmazásával a közelmúltban lehetőség nyílt a felsorolt elméletek kísérletes igazolására, illetve kizárására. Az eddigi adatok elsősorban az egér humorális immunrendszerére vonatkoznak. Ezek szerint a genetikus teóriák mindegyik változata igaz: az immunglobulint kódoló öröklött génszakaszok a limfociták differenciálódása során szomatikus rekombináció révén épülnek össze, majd szomatikus mutációk járulnak hozzá az aktuális antitest-repertoire-t kódoló génkészlet kialakításához. Az instrukciós és epigenetikus elgondolásokat támogató adatokról nincs tudomásunk. Ugyanakkor azonban kétségtelen, hogy az antitestek diverzitása epigenetikusan szinten generalódik, hiszen a nehéz és könnyűlánc-fehérjék kombinatorikus kapcsolódása alakítja ki az antigénkötőhelyeket; ezen kívül egyetlen antitest különféle antigénnel reagálhat, más-más affinitással [13]. A szükséges repertoire-t csökkentheti az is, hogy egy azon antigén molekula különböző felszíni determinánsait ismerheti fel idegenként az immunrendszer [57].

A genetikus teóriákat támogató adatok

A II. táblázat azokat a modell-rendszereket mutatja be, amelyek lehetővé tették az immunglobulinok és az őket kódoló gének megismerését.

II. táblázat

*Az antitest-változatosság vizsgálatában felhasznált
modell-rendszerek*

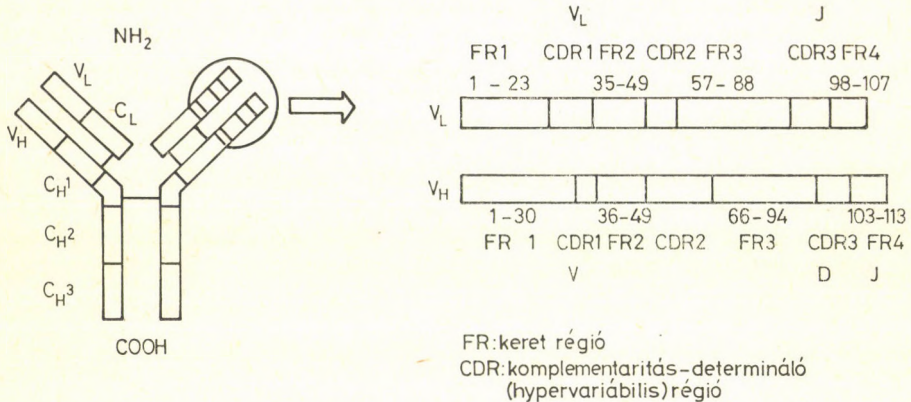
Myelomák
Hybridomák
Abelson-MuLV által transzformált pre-B sejtvonalak
CELL-SORTER-rel szeparált normális B sejtek
Génkönyvtárak

A myelomákat általában homogén sejtpopuláció alkotja, termékeik is homogének [39, 55] ugyanakkor mutációk és génátrendeződések keletkezhetnek e malignus sejtekben, amelyek esetleg nem jellemzőek a normális nyiroksejtekre [22, 23].

Az antitestet nem termelő myeloma sejtek és immunizált lépsejtek fúziójával előállított hybridomák voltaképpen adott antigénre reagáló immortalizált limfocitáknak foghatók fel, de ezek a sejtek is malignusak [50]. Az Abelson-murine leukemia vírussal transzformált pre-B sejtvonalak képesek *in vitro* differenciálódásra, lehetőséget nyújtva a B sejtek ontogenezise során lejátszódo génátrendeződések és génexpresszió-változások tanulmányozására [13, 31, 56]. A cell sorterrel szeparált normális nyiroksejtek heterogén populációt alkotnak

ugyan, megfelelően megválasztott klónozott DNS próbákkal azonban heterogén sejtpopulációkban is vizsgálható az immunglobulin gének átrendeződése [11]. Végül az embrionális sejtekből vagy spermiumokból preparált DNS klónozásával előállított génkönyvtárak képezték azt a viszonyítási alapot, amellyel összehasonlítva a nyiroksejtekből klónozott immunglobulin géneket a variáns immunglobulin DNS szekvenciák és rekombinációk léte igazolható volt.

Az 1. ábra egy antitest molekula szerkezetét mutatja, feltüntetve a V régiót kódoló génszakaszokat is. A nehéz (H) és könnyűláncok (L) egyaránt variábilis (V) és konstans (C) régiókra oszthatók. Éppen az antitestek e kettős természeté, tehát V régiók extrém heterogenitása s ugyanakkor egy szerológiai azonosítható determinánsuk egyetlen mendeli jegyként való szegregációja



1. ábra. Egy antitest molekula felépítése
 Fig. 1. The structure of an antibody molecule

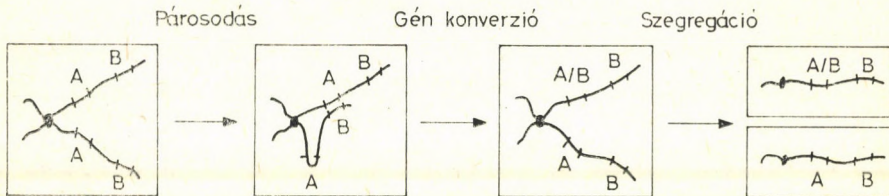
alapján proponálta DREYER és BENNETT [15] azt, hogy a variábilis és konstans régiókat különálló gének kódolják, amelyek a limfocita fejlődése során kapcsolódnak össze. A variábilis régiókon belül az antigénnel közvetlenül kontaktusba kerülő hipervariábilis, más néven komplementaritást determináló és az azokat keretező framework vagy keretszekvenciák különíthetők el [36, 38, 58]. Myeloma fehérjék V régióinak aminosav szekvenciáit összehasonlítva KABAT, WU és BILOFSKY [26, 27], valamint CAPRA és KINDT [10] azt találták, hogy ugyanaz a keretszekvencia különböző hipervariábilis régiókkal és ugyanaz a hipervariábilis régió más és más keretszekvenciákkal együtt vehet részt egy-egy V lánc felépítésében. KABAT és munkatársai feltételezték, hogy a V gének hét minigén összekapcsolásával keletkeznek a limfociták ontogenezise során. Definíciójuk szerint a minigén a teljes V gén egy részét kódolja és funkcionális egységként a V régió többi részét kódoló DNS-től függetlenül szegregálódik. Feltételezték, hogy a keret és hipervariábilis régiókat kódoló DNS szakaszokat proteint nem kódoló DNS darabok, azaz intronok választják el egymástól, s ezek a korai embrionális fejlődés alatt eliminálódnak a minigének rekombinációi során. Az elmélet részben beigazolódott: az első V_L régió-DNS szekvenciák analízise során nem lehetett számot adni a V_L protein C-terminális aminosavairól; a DNS szekvenciából megjósolt fehérje túl rövidnek bizonyult az aminosav-

szekvenciálással már megismerthez képest [43]. Az embrionális génkönyvtár V_L gént tartalmazó klónozott DNS fragmentumában az utolsó 13 aminosav kodonja egyszerűen nem volt megtalálható. Ezeket az aminosavakat a V génektől távol elhelyezkedő gén kódolja az embrionális DNS-ben. A könnyűláncok variábilis részének alkotásához tehát két DNS-szakasz is hozzájárul: az úgynevezett V_L gén kódolja az első három keret-régiót, az első két hipervariábilis régiót és a harmadik hipervariábilis régió nagy részét; a negyedik keret-szekvenciát viszont egy másik génszakasz, az ún. J . vagy joining gén kódolja, amelyik közrejátszik a harmadik hipervariábilis régió alkotásában is. Ez a J gén nem tévesztendő össze a szecernált IgM pentamer részét alkotó J lánc génjével.

A nehézláncok variábilis részét a V_H gén kódolja, kivéve a harmadik hipervariábilis régiót, amit egy minigén, a D vagy diversity szekvencia, és a negyedik keretrégiót, amelyet egy J_H gén kódol [41, 42]. A konstans régiókat a C_L , illetve C_H gének kódolják: az eukarióta gének általános szerveződési elvének megfelelően az egyes nehézlánc domain-eknek vagy szerkezeti egységeknek külön-külön exonok, azaz protein-kódoló génszakaszok felelnek meg, amelyeket intronok választanak el egymástól [16].

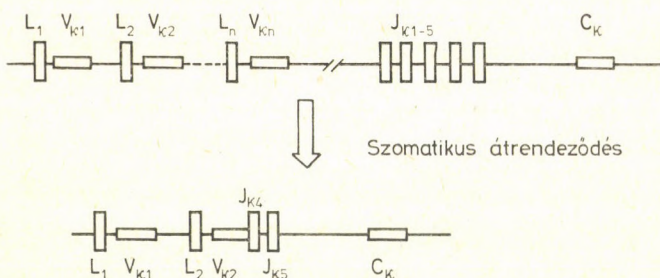
A J és D minigének felfedezése csak részben igazolta KABAT és WU, valamint BILORSKY elméletét; jóslatukkal ellentétben az embrionális DNS-ben a J és D szegmentumok kivételével nem választják el egymástól intronok a V_L és V_H gének keret, illetve hipervariábilis régióit kódoló génszakaszokat. Hogyan magyarázhatók akkor az aminosavszekvenciák összehasonlításából kikövetkeztethető független asszociációik [58], minigénszerű viselkedésük [59]? DAVID BALTIMORE elképzelése szerint [4] a V régiók szegmentális homológiáinak magyarázatához nem kell azok szomatikus rekombinációját feltételeznünk. Az evolúció során számos esetben létrejöhetnek úgynevezett génkonverziós események a különböző V gének között, s ezek során DNS szegmentumok kerülhetnek egyik génről a másikra (2. ábra).

Gén-konverzió alatt értendő az a folyamat, melyben az A gén kölcsönhatásba lép a B génnel, minek következtében A gén szekvenciája részben vagy teljesen azonossá válik a B gén szekvenciájával; mindkét gén megtartja integritását és elhelyezkedésük sem változik meg. Létrejön viszont egy nem reciprok változás az egyik partner szerkezetében. A génkonverzió pontos molekuláris mechanizmusa ismeretlen, jól magyarázza viszont azt, hogy különböző géncsaládok tagjainak szekvenciái igen homogéneknek bizonyultak; a V régiók esetében lehetőséget adhat függetlenül kifejlődött gének szakaszainak keveredésére. Ugyanakkor BALTIMORE elmélete nem ad kielégítő magyarázatot arra, hogy miért éppen a keret és hipervariábilis régiók határán megy végbe a génkonverzió.



2. ábra. Gén konverzió leánykromatidok között ([4] után)
 Fig. 2. Gene conversion between sister chromatids (see D. BALTIMORE [4])

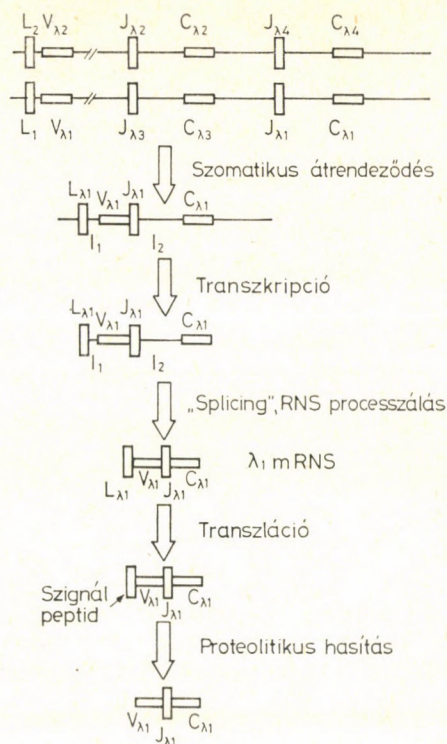
A 3. ábra az egér 16-os kromoszómáján elhelyezkedő lambda könnyűláncokat kódoló gének szerveződését mutatja be szomatikus átrendeződésük előtt és után; összesen két V_λ gén van, és négy C_λ gén. Mindegyik C_λ gén közelében található egy-egy J_λ gén [5]. Az ivarsejtekben és a lambda-termelő B-sejtek kivételével a felnőtt szervezet összes sejtjében a V_λ gének igen távol vannak a C_λ génektől. A lambda-termelő B-sejtekben viszont az egyik V_λ gén a C_λ gén közelében található J_λ génhez kapcsolódik. Az átrendeződés után a proteinkódoló génszakaszokat még két intron választja el egymástól, ezek a transzkripció után kerülnek kiszabásra a heterogén nukleáris RNS-ből az ún. „splicing”



3. ábra. Az y géncsalád
Fig. 3. Y gene family

mechanizmus révén. Az ábrán L-el jelöltük a V_λ gének előtt elhelyezkedő ún. leader vagy vezető génszegmentumokat, amelyek egy erősen hidrofób ún. szignál peptidet kódolnak; szignál peptideket számos szecernált fehérje naszcens alakja tartalmaz. Hozzájuk hasonlóan a lambda láncok is proteolitikus hasítás révén nyerik el végső formájukat. Kis számuk miatt éppen az egér V_λ génjei esetében lehetett először valószínűsíteni szomatikus mutációk szerepét az antitest-repertoire létrejöttében: 19 Balb/c és NZB lambda 1 myeloma protein aminosavszekvenciájának összevetésekor 12 azonosnak bizonyult, a többiek egymástól és a prototípus szekvenciától egyaránt különböztek. A V lambda 1 génből haploid genomként csak egy detektálható nukleinsav hibridizációval, s ennek nukleotid szekvenciája pontosan megfelel a prototípus $V_\lambda 1$ aminosavszekvenciájának. A variánsok tehát szomatikus mutációval keletkezettek [51, 52]. A lambda láncok az egér össz-szérumimmunglobulin mintegy 5%-át alkotják és 90%-uk a lambda 1 altípusba sorolható; ennek magyarázata az lehet, hogy a $V_\lambda 1$ gén előszeretettel rekombinálódik a $C_\lambda 1$ génnel, ritkábban a $C_\lambda 3$ -mal, a többi C_λ génhez nem kapcsolódik; $V_\lambda 2$ viszont csak $C_\lambda 2$ -vel asszociálódik. $C_\lambda 4$ gén expresszióját még nem észlelték [5].

A 4. ábra a 6. kromoszómára lokalizált kappa könnyűláncokat kódoló gének elrendeződését mutatja be szomatikus átrendeződés előtt és után. A V_κ gének számát mintegy 300-ra becsülik; elméletileg ezek mindegyike rekombinálódhat az egyetlen C_κ gén előtt elhelyezkedő öt J_κ gén bármelyikével [43, 51]. Éppen egy kappalánc-termelő plazmocytoma vizsgálata során fedezte fel HOZUMI és TONEGAWA [25] az immunglobulin gének szomatikus átrendeződését, igazolván DREYER és BENNETT feltételezését. A V és C gének kapcsolódásának modelljeit szemlélteti az 5. ábra.

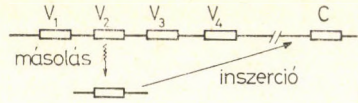


4. ábra. A λ géncsalád
Fig. 4. X gene family

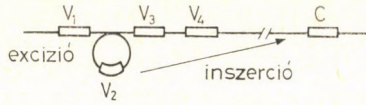
Úgy tűnik, hogy az első két modell a kappa géncsalád esetében nem releváns. A rekombináció egyes adatok szerint a V és J gének közti DNS szakasz deléciójával jár együtt. Mások szerint inverzióval magyarázható; utóbbi esetben a V gén transzkripció orientációja az ivarsejtek genomjában ellentétes a B-sejtekben megfigyelthez képest [32]. A rekombináció molekuláris mechanizmusa ismeretlen, mindenesetre a V-J rekombináció során mutációk: szubsztitúciók, inszerciók és deléciók keletkezhetnek a J szegmentum kezdeti szakaszán. Ezt az ún. junctionális szekvencia diverzitást szemlélteti a 6. ábra. A variáns J szekvenciák a harmadik hipervariábilis régió befolyásolásával hozzájárulhatnak a kappalánc repertoire kibővítéséhez. WEIGERT és munkatársai a 6. ábrán látható összes kapcsolódás változatnak megfelelő aminosavszekvenciára találtak példát a publikált kappalánc-szekvenciák között [54].

A 7. ábra a 12-es kromoszómán elhelyezkedő nehézláncgénnek elrendeződését mutatja a szomatikus rekombináció előtt és után; a kappaláncokhoz képest különbséget jelent, hogy a harmadik hipervariábilis régió létrehozásához a genomban különállóan elhelyezkedő D, azaz diversity DNS szakaszok járulnak hozzá; mintegy 12 ilyen D minigén kapcsolódhat 100—200 V_H gén és 4 J_H gén valamelyikével [40, 42, 51]. A D—J kapcsolódás valószínűleg megelőzi a V_H gén csatlakozását. A D szegmentum végénél a kapcsolódás pontatlan, ami

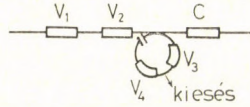
a.) kópia inszerció



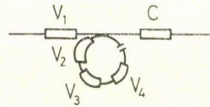
b.) excízió-inszerció



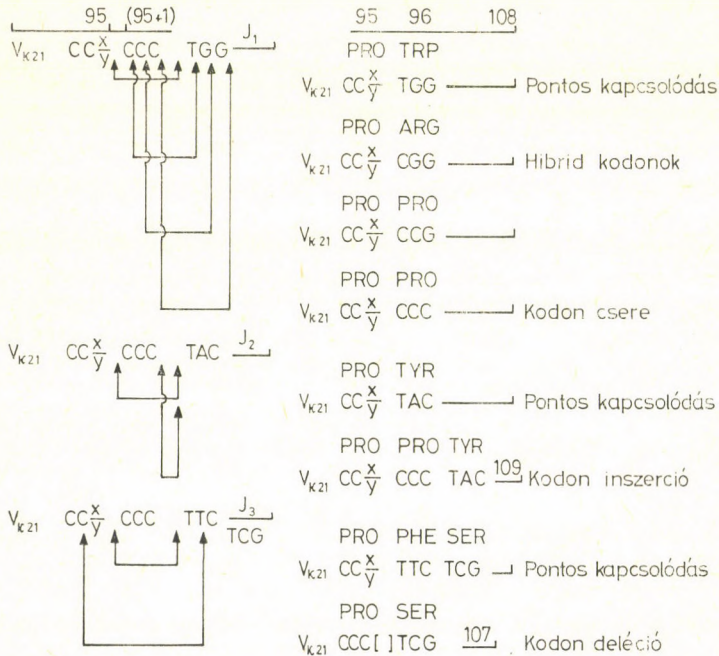
c.) delécíó



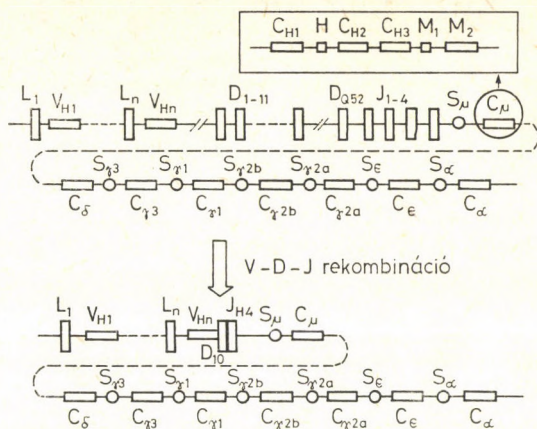
d.) inverzió



5. ábra. A V-C rekombináció modelljei HOZUMI és TONEGAWA [25] szerint
Fig. 5. Models for V-C joining (see HOZUMI and TONEGAWA [25]).



6. ábra. V_{K21} gén és J génszakaszok kapcsolódása WEIGERT és munkatársai szerint [54]
Fig. 6. Fusion of V_{K21} genes and J gene segments (see WEIGERT et al. [54])



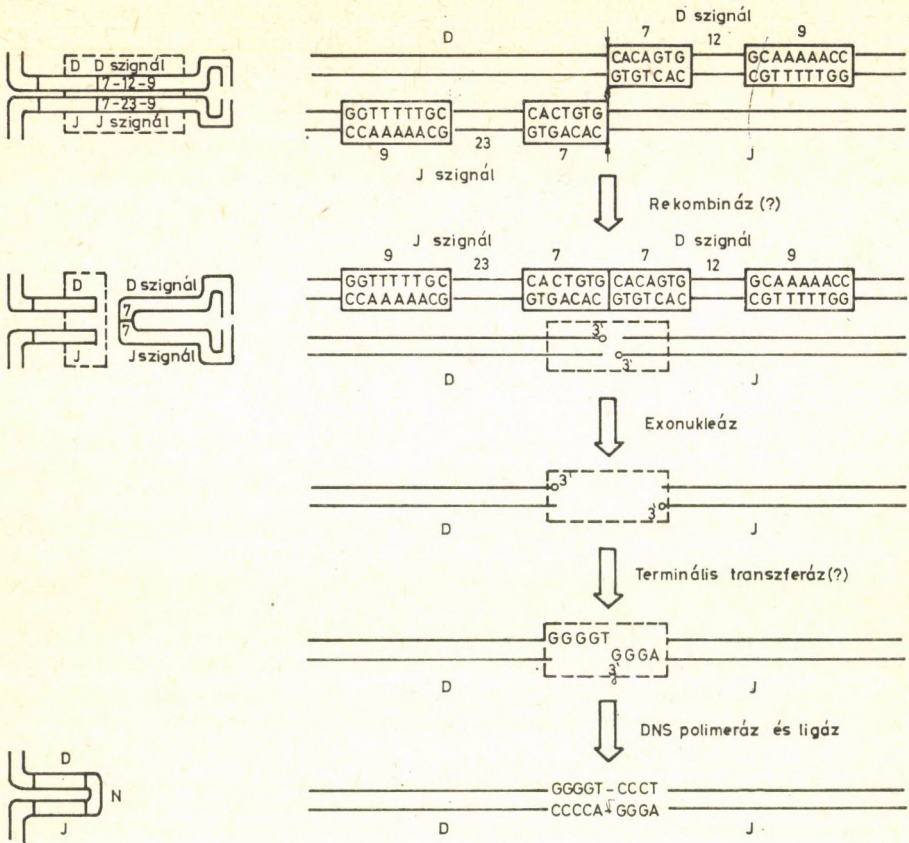
7. ábra. A nehézlánc géncsalád
Fig. 7. Heavy chain gene family

variáns szekvenciák keletkezéséhez vezet. A D-J kapcsolódás egy lehetséges modelljét [2] mutatja be a 8. ábra.

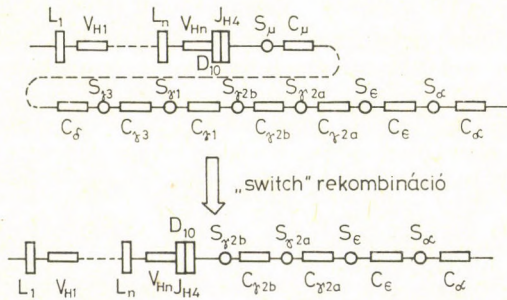
Egy hipotetikus enzim 7, illetve 9 bázisból álló felismerő szekvenciákhoz kapcsolódik, átvágja mind a 4 DNS szálat, majd egyesíti a szignál-szekvenciákat egymással. A D génnek a J_H génnel való egyesítését viszont megelőzi egy exonukleáz és egy terminális transzferáz működése. Ezek a lépések szükségesek olyan — az ábrán N-el jelölt — szekvencia variánsok keletkezésének magyarázatához, amelyek nem vezethetők le egyik D gén és egyik J_H gén szekvenciájából sem, tehát feltehetőleg templát felhasználása nélkül működő enzim, pl. terminális transzferáz is közreműködik szintézisükben. A kapcsolódás pontatlanságai néha a kodonok olvasási keretének elcsúszását eredményezik. Az ilyen rekombinációk improduktívak. A diverzitás elérése tehát veszteségekkel is jár.

A V—D—J kapcsolódás általában C_μ gén aktiválódásához vezet a B sejtekben. Ugyanaz a V_H gén azonban egymás után két vagy több C_H génnel is kapcsolódhat, ez az ún. nehézlánc-osztály vagy izotípus váltás (9. ábra). A rekombináció a V_H gén környékén található ún. switch vagyis kapcsoló DNS szakaszokon jön létre [28, 34, 41]. Számos olyan példa is ismeretes azonban, amikor nem előzi meg újabb switch-régió mediálta génátrendeződés a C_μ géntől 3' irányba eső nehézláncgének aktiválódását. Leírták pl. C_μ és C_δ gének egyidejű expresszióját és asszociációját ugyanazzal a V_H génnel [29]. Ezt a V—D—J komplexet és mindkét C_H gént felölelő transzkript alternáló processzálása teszi lehetővé. Hasonló módon, különböző splice pontok hasznosításával keletkeznek egyazon transzkriptból az immunglobulinok membránhoz kötött, illetve szecernált formáját kódoló mRNS-ek [52].

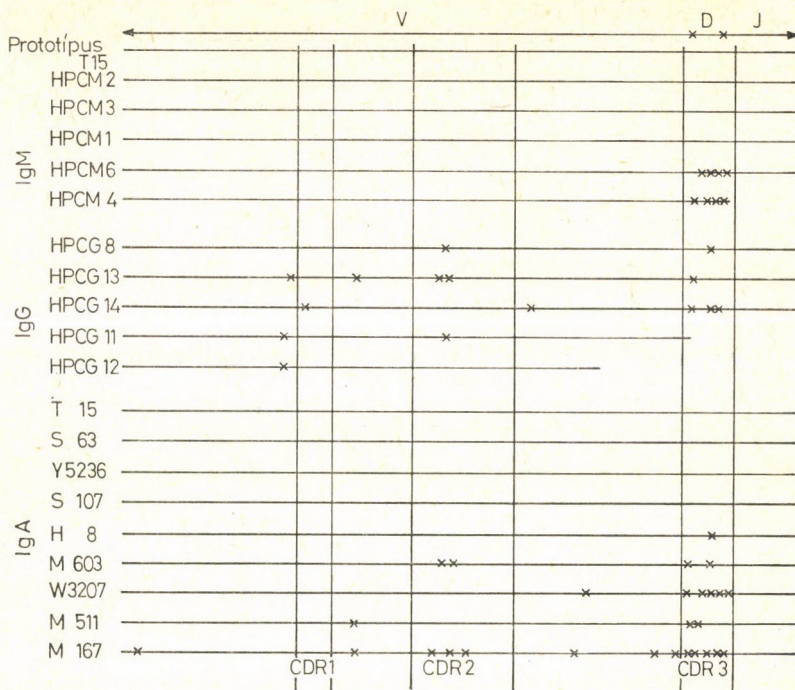
A splice pontok környékét érintő mutációk eredménye aberráns proteinek szintézise lehet, így magyarázható egyes emberi nehézlánc-betegségekben észlelhető proteinek keletkezése. Egér myelomákban is észleltek hasonló jelenséget, pl. a CH1 régió kiesését vagy a leader sequentia és a C_x régió közti szakasz teljes deletióját [16].



8. ábra. A D-J rekombináció modellje ALT és BALTIMORE [2] szerint
Fig. 8. A model for D-J recombination (see ALT and BALTIMORE [2])



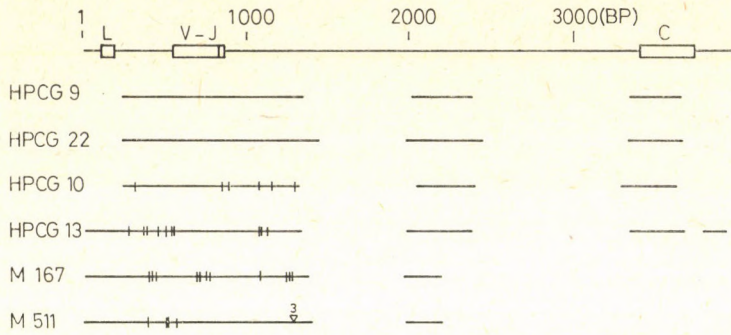
9. ábra. Nehézláncosztály-váltás modellje KATAOKA és munkatársai [28] szerint
Fig. 9. A model for heavy chain class switch (see KATAOKA et al. [28])



10. ábra. Foszforylcholin-ellenes antitestek V_H régióinak sokfélesége GEARHART és munkatársai [19] nyomán
 Fig. 10. Diversity of anti-phosphorylcholine antibodies (see GEARHART et al. [19])

Úgy tűnik, hogy az izotípus váltást követően szomatikus mutációk halmozódnak fel a V_H génekben. Ezt szemlélteti a 10. ábra, amelyen hybridoma és myeloma eredetű anti-foszforylcholin antitestek V_H régióinak aminosav-szekvenciáit hasonlították össze GEARHART és munkatársai [19]. Látható, hogy a D génszakaszok sokféleségéből és szomatikus változataiból adódóan a harmadik hipervariábilis régió a legheterogénebb. Számos szekvencia azonban eltér a prototípustól a másik két hipervariábilis régiót és a keretszekvenciákat tekintve is. Ezek a pontmutációkkal magyarázható variánsok gyakoribbak az IgG és IgA nehézláncsztyályokban, mint az IgM antitestek között. A mutációk nemcsak a V_H , hanem a V_L géneket is érintik. Ezt szemlélteti a 11. ábra. 6 átrendeződött V_x gén DNS szekvenciája közül 2 teljesen egyezik a prototípusával, 4 azonban jelentősen eltér attól. Mutációk figyelhetők meg a V_x és J_x géneken kívül eső területeken is, nem érintik azonban a C_x gént [20].

Különböző laboratóriumok szinte egy időben jutottak arra az eredményre, hogy a szomatikus mutációk gyakrabban érintik a V_H és V_L géneket az izotípus váltás után, mint az előtt [19, 20, 37, 44]. Feltételezik, hogy speciális hiper-mutációs mechanizmus aktiválódik az átrendeződött V_H és V_L géneket hordozó kromoszómákon. A másik lehetőség az, hogy mutációk halmozódnak fel a B-sejtek egész élete folyamán. Ez esetben a nehézlánc-váltáson átesett B-sejtek idősebbek, mint az IgM termelők.

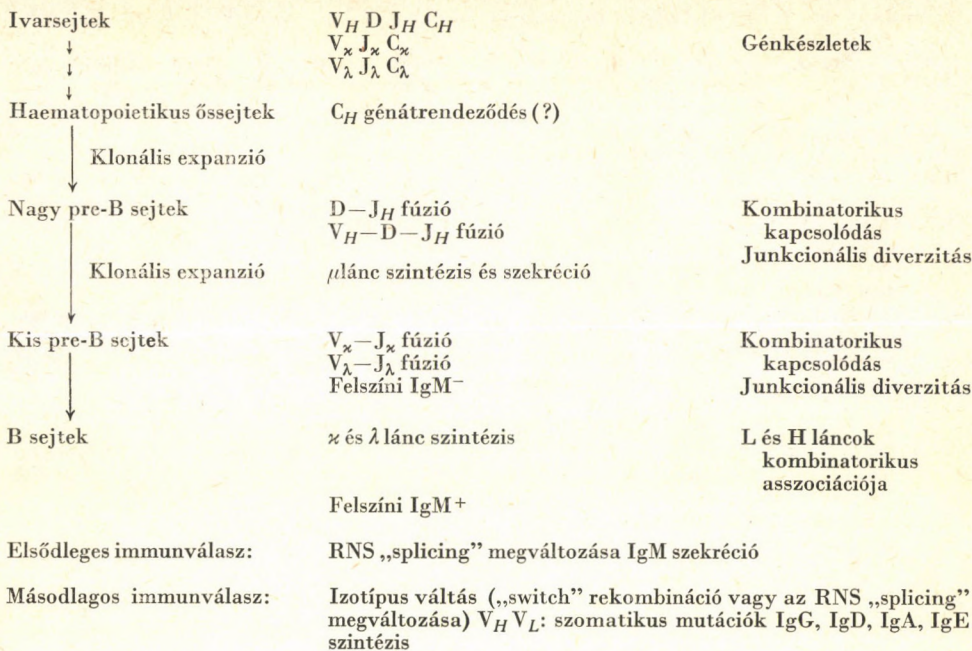


11. ábra. Pontmutációk csoportosulása átrendeződött $V_{\kappa 167}$ gének környékén, GEARHART és BOGENHAGEN [20] szerint
 Fig. 11. Clusters of point mutations around rearranged $V_{\kappa 167}$ genes (see GEARHART and BOGENHAGEN [20])

Megjegyzendő, hogy a mutációk nem vezetnek szükségszerűen olyan antitestek keletkezéséhez, amelyek affinitása lényegesen nagyobb az általuk megkötött antigénhez, mint a prototípus szekvenciáé. Ugyanakkor azonos IgM V_H lánc különböző V_L prototípus szekvenciákkal való asszociálódása egy nagyságrenddel is megváltoztathatja a kötőhely affinitását adott hapténnel szemben. [19].

Az antitest-repertoire kialakulása a B-sejtek ontogenezise során

A 12. ábra azt mutatja be, hogy a B-limfociták ontogenezisének különböző stádiumaiban milyen sorrendben követik egymást azok a jelenségek, amelyek hozzájárulnak az antitest-repertoire kialakulásához. Az immunglobulin génkönyvtárban még az első felismerhető pre-B sejt szintje előtt, a haemopoietikus őssejtben átrendeződés jöhet létre: leírták pl. C_H gének delécióját olyan ABELSON MuLV transzformálta sejtekben, amelyekben a V—D—J kapcsolódás még nem ment végbe [1]. Az ún. nagy pre-B sejtek szintjén a D—J fúzió általában megelőzi a V_H gén kapcsolódását a D—J komplexhez [2]. Ezek a sejtek μ láncot termelnek és szecernálnak, de könnyűláncot nem szintetizálnak [11, 33]. Ezen a szinten áll meg a X-kromoszómához kötött agammaglobulinaemiában szenvedő férfibetegek pre-B sejtjeinek differenciálódása [33]. A kis pre-B sejtekben kezdődik el a V_L és J gének kombinatorikus kapcsolódása és a könnyűlánc szintézis, s ez a folyamat az érett B-sejtek egy részében is zajlik [11]. A nehéz- és könnyűláncok kapcsolódása alakítja ki a felszíni IgM receptorokat. A különböző nem saját antigénekkal reagálni képes antitestek expressziója külső antigén távollétében is végbemegy, meghatározott sorrendben jelennek meg az egyes specifikus antitest-kötőhelyek, mintha a genetikus információ előre megszabott sorrendben permutálódva expresszálna [9, 35, 45, 46]. Valószínűleg egyetlen őssejtnek számos pre-B sejt utóda van, amelyek különböző V_H géneket expresszálnak. Minden egyes replikáló pre-B sejt klonális utódaiban azután más és más V_L gének aktiválódhatnak. Az egyes V gének aktiválódásának időrendjét szabályozó mechanizmus egyelőre ismeretlen.



12. ábra. Az antitest-repertoire kialakulása a B sejtek ontogenezise során
Fig. 12. Generation of antibody diversity during the ontogeny of B cells

Mindenesetre az öröklött immunglobulin génkészlet, a V—J és V—D—J kombinációk, valamint a junkcionális diverzitás és a nehéz- és könnyűláncok kombinatorikus kapcsolódása oly mértékű kötőhely-heterogenitást biztosít, hogy az IgM molekulák képesek tetszőleges antigén specifikus felismerésére a primer immunválasz során. A másodlagos immunválasz alatt a nehézlánc-osztály-váltást követően keletkező mutációk variáns immunglobulinok termelését teszik lehetővé, kiteljesítve és talán finomítva a meglévő antitest repertoire-t.

IRODALOM

1. AKIRA, S., SUGIYAMA, H., YOSHIDA, N., KIKUTANI, H., YAMAMURA, Y. and KISHIMOTO, T. (1983) Isotype switching in murine pre-B cell lines. *Cell*, **34**, 545—556.
2. ALT, F. W. and BALTIMORE, D. (1982) Joining of immunoglobulin heavy chain gene segments: Implications from a chromosome with evidence of three D-JH fusions. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **79**, 4118—4122.
3. ALT, F., ROSENBERG, N., CASANOVA, R. J., THOMAS, E. and BALTIMORE, D. (1982) Immunoglobulin heavy-chain class switching and inducible expression in an Abelson murine leukemia virus transformed cell line. *Nature*, **296**, 325—331.
4. BALTIMORE, D. (1981) Gene conversion: Some implications for immunoglobulin genes. *Cell*, **24**, 592—594.
5. BLOMBERG, B., TRAUNCKER, A., EISEN, H. and TONEGAWA, S. (1981) Organization of four mouse light chain immunoglobulin genes. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **78**, 3765—3769.
6. BRENNER, S. and MILSTEIN, C. (1966) Origin of antibody variation. *Nature*, **211**, 242—243.

7. BURNET, F. M. (1969) *Cellular immunology*. Melbourne University Press-Cambridge University Press
8. CAMPBELL, D. H. (1957) Some speculations on the significance of formation and persistence of antigen fragments in tissues of immunized animals. *Blood*, **12**, 589-592.
9. CANCRO, M. P., WYLIE, D. E., GERHARD, W. and KLINMAN, N. R. (1979) Patterned acquisition of the antibody repertoire: Diversity of the haemagglutinin-specific B-cell repertoire in neonatal BALB/c mice. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **76**, 6577-6581.
10. CAPRA, J. D. and KINDT, T. J. (1975) Antibody diversity: Can more than one gene encode each variable region? *Immunogenetics*, **1**, 417-427.
11. COFFMANN, R. L. and WEISSMAN, I. L. (1983) Immunoglobulin gene rearrangement during pre-B cell differentiation. *J. Mol. Cell. Immunol.*, **1**, 31-38.
12. COUNTINHO, A. (1979) The nature and acquisition of the antibody repertoire. *Ann. Immunol. Inst. Pasteur*, **130C**, 781-784.
13. CZAJA, M. J., RICHARDS, F. F. and VARGA, J. M. (1977) Multispecific lymphoid cell surface receptors. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **74**, 1224-1228.
14. DANCHIN, A. (1979) The specification of the immune response: A general selective model. *Molecular Immunology*, **16**, 515-526.
15. DREYER, W. J. and BENNETT, J. C. (1965) The molecular basis of antibody formation. A paradox. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **54**, 865.
16. DUNNICK, W., RABBITS, T. H. and MILSTEIN, C. (1980) An immunoglobulin deletion mutant with implications for the heavy-chain switch and RNA splicing. *Nature*, **286**, 669-675.
17. DU PASQUIER, L. and WABL, M. R. (1977) Ontogenesis of lymphocyte diversity in anuran amphibians. *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.*, **41**, 771-772.
18. GALLY, J. A. and EDELMAN, G. M. (1970) Somatic translocation of antibody genes. *Nature*, **227**, 341-348.
19. GEARHART, P. J., JOHNSON, N. D., DOUGLAS, R. and HOOD, L. (1981) IgG antibodies to phosphorylcholine exhibit more diversity than their IgM counterparts. *Nature*, **291**, 29-34.
20. GEARHART, P. and BOGENHAGEN, D. F. (1983) Clusters of point mutations are found exclusively around rearranged antibody variable genes. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **80**, 3439-3443.
21. GOOD, R. A. and PAPERMASTER, B. W. (1964) Ontogeny and phylogeny of adaptive immunity. *Adv. Immunol.*, **4**, 1-115.
22. GREENBERG, R., LANG, R. B., DIAMOND, M. S., MARCU, K. B. (1982) A switch region inversion contributes to the aberrant rearrangement of a μ immunoglobulin heavy chain gene in MPC-11 cells. *Nucleic Acids Research*, **10**, 7751-7761.
23. HARRIS, L. J., LANG, R. B. and MARCU, K. B. (1982) Non-immunoglobulin-associated DNA rearrangements in mouse plasmacytomas. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **79**, 4175-4179.
24. HOOD, L. and PRAHL, J. (1971) The immune system: A model for differentiation in higher organisms. *Adv. Immunol.*, **14**, 291-351.
25. HOZUMI, N. and TONEGAWA, S. (1976) Evidence for somatic rearrangement of immunoglobulin genes coding for variable and constant regions. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **73**, 3628-3632.
26. KABAT, E. A., WU, T. T. and BILOFSKY, H. (1979) Evidence supporting somatic assembly of the DNA segments (minigenes) coding for the framework and complementarity-determining segments of immunoglobulin variable regions. *J. Exp. Med.*, **149**, 1299-1313.
27. KABAT, E. A., WU, T. T. and BILOFSKY, H. (1978) Variable region genes for the immunoglobulin framework are assembled from small segments of DNA. A hypothesis. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **75**, 2429-2433.
28. KATAOKA, T., MIYATA, T. and HONJO, T. (1981) Repetitive sequences in class-switch recombination regions of immunoglobulin heavy chain genes. *Cell*, **23**, 357-368.
29. KNAPP, M. R., LIU, C. P., NEWELL, N., WARD, R. B., TUCKER, P. W., STROBER, S. and BLATTNER, F. (1982) Simultaneous expression of immunoglobulin μ and δ heavy chains by a cloned B-cell lymphoma: A single copy of the V_H gene is shared by two adjacent C_H genes. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **79**, 2996-3000.
30. LEDERBERG, J. (1959) Genes and antibodies. *Science*, **129**, 1649-1653.
31. LEWIS, S., ROSENBERG, N., ALT, F. and BALTIMORE, D. (1982) Continuing Kappa-gene rearrangement in a cell line transformed by Abelson murine leukemia virus. *Cell*, **30**, 807-816.
32. LEWIS, S., GIFFORD, A. and BALTIMORE, D. (1984) Joining of V_{κ} to J_{κ} gene segments in a retroviral vector introduced into lymphoid cells. *Nature*, **308**, 425-428.

33. LEWITT, D. and COOPER, M. D. (1980) Mouse pre-B cells synthesize and secrete μ heavy chains but not light chains. *Cell*, **19**, 617–625.
34. MARCU, K. B., LANG, R. B., STANTON, L. and HARRIS, L. J. (1982) A model for the molecular requirements of immunoglobulin heavy chain class switching. *Nature*, **298**, 87–89.
35. MOSIER, D. E., MOND, J. J. and GOLDINGS, E. A. (1977) The ontogeny of thymic independent antibody responses *in vitro* in normal mice and mice with an X-linked B cell defect. *J. Immunol.*, **119**, 1874–1878.
36. PADLAN, E. A. and DAVIES, D. R. (1975) Variability of three dimensional structure in immunoglobulins. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **72**, 819–823.
37. PECH, M., HÖCHTL, J., SCHNELL, H. and ZACHAU, H. G. (1981) Differences between germ line and rearranged immunoglobulin V_κ coding sequences suggest a localized mutation mechanism. *Nature*, **291**, 668–670.
38. POLJAK, R. J. (1975) X-ray diffraction studies of immunoglobulins. *Adv. Immunol.*, **21**, 1–33.
39. POTTER, M. (1977) Antigen-binding myeloma Proteins of mice. *Adv. Immunol.*, **25**, 141–211.
40. ROCCA-SERRA, J., MATTHES, H. W., KAARTINEN, M., MILSTEIN, C., THEZE, J. and FOUGEREAU, M. (1983) Analysis of antibody diversity: V-D-J mRNA nucleotide sequence of four anti-GAT monoclonal antibodies. A paucigenic system using alternate D-J recombinations to generate functionally similar hypervariable regions. *EMBO J.*, **2**, 867–872.
41. SAKANO, H., MAKI, R., KUROSAWA, Y., ROEDER, W. and TONEGAWA, S. (1980) Two types of somatic recombination are necessary for the generation of complete immunoglobulin heavy-chain genes. *Nature*, **286**, 676–683.
42. SAKANO, H., KUROSAWA, Y., WEIGERT, M. and TONEGAWA, S. (1981) Identification and nucleotide sequence of a diversity DNA segment (D) of immunoglobulin heavy-chain genes. *Nature*, **290**, 562–570.
43. SEIDMAN, J. G., MAX, E. E. and LEDER, P. (1979) A κ -immunoglobulin gene is formed by site-specific recombination without further somatic mutation. *Nature*, **280**, 370–375.
44. SELSING, E. and STORB, U. (1981) Somatic mutation of immunoglobulin light-chain variable region genes. *Cell*, **25**, 47–58.
45. SHERR, D., SZEWCZUK, M. R. and SISKIND, G. W. (1977) Ontogeny of B lymphocyte function IV. Kinetics of maturation of B lymphocytes from fetal and neonatal mice when transferred into adult irradiated hosts. *J. Immunol.*, **119**, 1674–1679.
46. SIGAL, N. H., GEARHART, P. J., PRESS, J. L. and KLINMAN, N. R. (1976) Late acquisition of a germ line antibody specificity. *Nature*, **259**, 51–52.
47. SMITHIES, O. (1965) Antibody induction and tolerance. *Science*, **149**, 151–156.
48. SMITHIES, O. (1967) Antibody variability. *Science*, **157**, 267–273.
49. TALMAGE, D. W. (1959) Immunological specificity. *Science*, **129**, 1643–1648.
50. TEILLAUD, J. L., DESAYMARD, C., GIUSTI, A. M., HASELTINE, B., POLLOCK, R. R., YELTON, D. E., ZACK, D. J. and SCHARFF, M. D. (1983) Monoclonal antibodies reveal the structural basis of antibody diversity. *Science*, **222**, 721–726.
51. TONEGAWA, S. (1983) Somatic generation of antibody diversity. *Nature*, **302**, 575–581.
52. TYLER, B. M., COWMAN, A. F., ADAMS, J. M. and HARRIS, A. W. (1981) Generation of long mRNA for membrane immunoglobulin chains by differential splicing. *Nature*, **293**, 406–408.
53. WEIGERT, M. G., CESARI, I. M., YONKOVICH, S. J. and COHN, M. (1970) Variability in the lambda light chain sequences of mouse antibody. *Nature*, **228**, 1045–1047.
54. WEIGERT, M., PERRY, R. and KELLEY, D. (1980) The joining of V and J gene segments creates antibody diversity. *Nature*, **283**, 497–499.
55. WESTEN-SCHNURR (ed.) (1983) *Mechanisms of B cell neoplasia*. Workshop at the Basel Institute for Immunology. Editions Roche, Basle, Switzerland
56. WHITLOCK, C. A., ZIEGLER, S. F., TREIMAN, L. J., STAFFORD, J. L. and WITTE, O. N. (1983) Differentiation of cloned populations of immature B cells after transformation with Abelson murine leukemia virus. *Cell*, **32**, 903–911.
57. WILEY, D. C., WILSON, I. A. and SKEHEL, J. J. (1981) Structural identification of the antibody-binding sites of Hong-Kong influenza haemagglutinin and their involvement in antigenic variation. *Nature*, **289**, 373–378.
58. WU, T. T. and KABAT, E. (1970) An analysis of the sequences of the variable regions of Bence Jones proteins and myeloma light chains and their implications for antibody complementarity. *J. Exp. Med.*, **132**, 211–250.
59. WU, T. T. and KABAT, E. A. (1982) Fourteen nucleotides in the second complementarity-determining region of a human heavy-chain variable region gene are identical with a sequence in a human D minigene. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **79**, 5031–5032.

MOLECULAR BIOLOGICAL BASIS OF THE GENERATION
OF "ANTIBODY DIVERSITY"

Minárovits, J.

Theories of antibody formation can be subdivided based on the role they contribute to the antigen in the immune response (instruction or selection) and according to their suggestions concerning the level of the generation of antibody diversity (epigenetic or genetic). Data of recent experiments using recombinant DNA techniques, protein and DNA sequencing strongly support genetic theories. Variable regions of immunoglobulin molecules are coded by germline gene and minigene sets. During B cell development the separated gene segments are fused (somatic recombination). Combinatorial joining of gene segments and inaccuracies at the site of joining results in sequence diversity of the third hypervariable region. Accumulation of somatic mutations affecting both hypervariable and framework regions of heavy and light chains occurs after isotype switch.

MESTERSÉGES VÉRPÓTLÓK

SZEBENI JÁNOS*

Országos Haematológiai és Vértranszfúziós Intézet, Budapest

Beérkezett: 1984. június 10-én

Kulcsszavak: mesterséges vér, perfluoro-vegyületek, hemoglobín-oldat, polihemoglobín, dextrán-hemoglobín, hemoszóma

Bevezetés

Vér helyett művér — a fantáziát megkapó, izgalmas lehetőség. Valóra váltása világszerte intenzív kutatás tárgya. A cél egyelőre természetesen nem az, hogy a művéradás kiszorítsa a hagyományos vértranszfúziót; ez illuzórikus lenne. A művér fejlesztésének jelenlegi célja elsősorban a jobb hatásfokú első-segélynyújtás, néhány súlyos, egyéb módon nem kezelhető betegség ellátása, valamint bizonyos tudományos problémák tisztázása ide sorolva a transzplantációra váró szervek hosszú idejű konzerválásának megoldását.

Az esetleges művér jelentőségét az oxiológiában talán felesleges méltatni; a vércsoport problematika kiküszöbölésével lehetővé váló azonnali véradás sokszorosára növelné a súlyos vérvesztéssel járó balesetek túlélésének esélyeit. Az egyéb módon (transzfúzióval) nem kezelhető betegségek között az izoimmunizálódással és/vagy haemochromatosisal szövődött aplasztikus, sarlósejtes és tumor okozta anaémiát említenénk [29]. A művér további reményteljes felhasználási területe a vascularis oclusio okozta kórképek lokális, perfúziós kezelése [29, 53], az extracorporalis (szív) műtétek [20, 26], valamint a súlyos mérgezések vércserével történő gyógyítása [29]. A tudományos kérdések közül főként azok tisztázása léphet jelentősen előre a művér felhasználásával, melyek megoldásában a vörsejtek, ill. plazmafehérjék jelenléte jelent akadályt. Ilyen problémakörök a farmakológiában (toxikológia, hemo- és immunterápia), a fizioológiában (hormon- és enzimhatás kutatások), valamint a hematológiában (vörsejt- és plazmafehérje-kinetikai vizsgálatok) mindennaposak. Az esetleges művér talán legáltalánosabb jótéteményét a transzplantációs sebészet élvezné, amennyiben művérrel történő perfúzióval hosszú időn keresztül életben lehetne tartani a fagyasztással nem tárolható szerveket [34].

E rövid felsorolásból is látható, milyen óriási jelentőségű lenne egy művér-készítmény elterjedése a klinikai gyakorlatban. Hogy mégsem valósult még meg, annak a nagyszámú és külön-külön elengedhetetlen követelmény az oka, melynek egy potenciális művér-készítmény meg kell hogy feleljen. Csak a legfontosabbakat sorolva: pótolnia kell a vörösvörsejtek gáztranszport funkcióját beleértve az oxigén és széndioxid szállítást, biztosítania kell a plazma kolloid ozmotikus nyomását, tartalmaznia kell a létfontos ionokat és pufferrendszereket fizioológiás koncentrációban, nem szabad, hogy antigéneket vagy toxikus komponenseket tartalmazzon, hogy bármilyen ártalmas tünetet okoz-

* Jelenlegi munkahely: Országos Élelmezéstudományi Intézet, Budapest.

zon vagy betegséget vigyen át, hogy a haemostasist megzavarja, és hogy akkumulálódjon bármelyik szervben. Funkcióját ugyanakkor el kell látnia mindaddig, amíg a regenerálódó saját vér azt át nem veszi. Könnyen sterilizálható és hosszú ideig sterilen tárolható, valamint nem utolsósorban olcsónak, gazdaságosnak kell lennie.

A fenti feltételek legtöbbjét az ismert plazma-expanderek (dextrán, polioxi-zselatin, HES*, PVP**) többé-kevésbé kielégítik. Az igazán nagy nehézséget a vörösvérsejt-pótlás, vagyis a szövetek oxigén ellátásának biztosítása jelenti. A jelen munka e probléma megoldásának eddigi megközelítéseit, a különböző vörösvérsejt-pótló preparátumok előnyeit és hátrányait, az ez irányú kutatás legújabb fejleményeit tűzte célul áttekinteni.

A perfluoro-vegyületek mint oxigénszállítók

A perfluoro-vegyületek (a továbbiakban PFV-ek) rendkívüli sajátságokkal rendelkező inert szerves folyadékok, mely sajátságok közül a nagy gázoldó képesség és a különleges kémiai stabilitás oxigén-szállításra teszik alkalmassá a csoport néhány képviselőjét. Az irodalomban fluorocarbon néven is ismertek ezen anyagok, minthogy azonban a legelterjedtebb vegyületek a szénen és a fluoron kívül egyéb atomokat (oxigén, nitrogén) is tartalmaznak, a perfluoro-vegyület elnevezés pontosabb [68]. A PFV-ek története a II. világháború idejére nyúlik vissza, amikor az atombomba előállítására irányuló Manhattanterv keretében először állítottak elő és vizsgáltak fluorozott szénhidrogéneket uránium-izotópok szeparálása céljából [16, 44]. Egy csoportjukat később ideg-bénító harci gázzá fejlesztették ki [16]. Ma a PFV-ek számos ipari alkalmazása ismert főként szigetelő- és hűtőközegként [44]. A PFV-ek előállítására több módszer ismeretes, a legjobb hatásfokú a szénhidrogének elektrokémiai fluorinálása [66]. Az eljárás során nagyszámú izomer keletkezik, melyek elválasztása a fő komponenstől ipari méretekben igen nagy nehézséget jelent. A PFV-eket ezért nem analitikai tisztaságú anyagként, kódneven forgalmazzák***. Az *I. táblázatban* a biológiai kísérletekben leginkább alkalmazott PFV-ek kódnevét, a fő komponens kémiai nevét és szerkezeti képletét, valamint legfontosabb fizikokémiai paramétereit gyűjtöttük össze. A PFV-ek szintelen, alacsony viszkozitású folyadékok, sűrűségük mintegy kétszerese az azonos szénatomszámú szénhidrogénekének, forráspontjuk alig magasabb az azonos mólsúlyú nemesgázokénál [29, 66]. Csak néhány szerves oldószerben (éter, klórozott szénhidrogének) oldódnak. A szén és fluor atom közötti kötésenergia (116 kCa/mol) igen magas, ugyanakkor a szomszédos molekulák közötti vonzóerők minimálisak. Ennek következtében a PFV-ek egyrészt kémiailag a legstabilabb anyagok közé tartoznak, másrészt felületi feszültségük az összes folyadék között a legalacsonyabb (gőznyomásuk igen magas), így minden más anyagot „nedvesítenek”. Említett különleges sajátságuk, a nagy gázoldó képesség a gyenge intermolekuláris kölcsönhatásokkal van összefüggésben.

A *II. táblázat* bemutatja, hogyan viszonyul a PFV-ek oxigén-oldó képessége egymáshoz, a vízhez és a vörösvérsejtekhez. Mint kitűnik, a legjobban az

* Hydroxyethyl-starch (keményítő)

** polyvinyl-pyrrolidone

*** 3M Company, USA

I. táblázat

A legfontosabb perfluoro-vegyületek sajátosságai
 Table 1. The properties of the most important perfluoro-compounds

Kódnév	FC-75 (FX-80, FC-80)	FC-43 (FC-47)	PP-5
A fő komponens kémiai neve	Perfluorobutil-tetrahydrofuran	Perfluoro-tributilamin	Perfluoro-decalin
A fő komponens szerkezeti képlete			
Mólsúly	416	671	462
Sűrűség (g/ml, 20 °C)	1,78	1,87	1,91
Gőznyomás (Hgmm, 25 °C)	77	3,5	12,7
Felületi feszültség (dyn/cm ² , 25 °C)	15	16,1	
Viszkozitás (cs. 25 °C)	0,7	2,7	
Forráspont (°C)	103	177	140

II. táblázat

A perfluoro-vegyületek oxigéntartalma oxigén-atmoszférában történő telítés után, 25 °C-on (SLOVITER, 1978)

Table 2. The oxygen content of perfluoro-compounds after saturation in oxygen atmosphere (SLOVITER, 1978)

	ml O ₂ /ml
Vörösvérsejt	0,46
FX-80	0,51
FC-47	0,40
H ₂ O	0,028

FX-80 köti (fizikálisan oldja) az oxigént; mintegy 18-szor többet mint az azonos térfogatú víz, 10%-kal többet mint a vér és mintegy 28%-kal többet, mint az FC-47. Hangsúlyozni kell azonban, hogy az adatok oxigén-atmoszférában történt ekvilibrálás után érvényesek.

A perfluoro-vegyületek, mint légzőközeg

A PFV-ek gáz-transzportáló rendszerként történő *in vivo* alkalmazása nem mint vörösvérsejt-pótló anyag, hanem mint légzési közeg került először az érdeklődés középpontjába. 1962-ben, az „American Society for Artificial Organs” évi rendszeres kongresszusának utolsó napján a szorványos hallgatóság meghökkentő képeket láthatott víz alatt „lélegző” egerekről, melyek a levegőre visszatérve túléltek a kísérletet [32]. J. A. KYLSTRA „Egér mint hal” c. szenzációt keltő előadásában beszámolt arról, hogy az egerek a víz alatt is életben tarthatók, ha azt túlnyomáson oxigenálják. E kísérletek [39, 40] áttörték azt az általános szemléleti korlátot, hogy szárazföldi élőlények csakis levegő belélegzésével élhetnek [32]. Nem sokkal később az oxigenált sóoldatot felváltották a PFV-ek, melyek „belélegzésekor” az állatok légköri oxigén-nyomáson is életben maradtak, és számos közlemény bizonyította, hogy egerek [19, 79], macskák [19], kutyák [31, 32, 50] és hörcsögök [57] nagy része túléli a rövidebb-hosszabb ideig tartó PFV-légzést. Természetesen a PFV-ek légzése nem ekvivalens a levegő-légzéssel, és nem jár következmények nélkül. A gáz-diffúzió a PFV-ekben sokkal kisebb a levegőben tapasztaltnál, ezért tracheo-alveoláris O_2 és alveolo-trachális CO_2 gradiens alakul ki PFV-légzéskor [32]. Másrészt a PFV-ek nagy sűrűsége miatti súrlódás-növekedés rendkívül megnehezíti a be- és kilégzést, aminek következtében a légzési frekvencia csökken. A fenti két kedvezőtlen feltétel végül hipoventillációhoz, hipercapniához és respiratorikus acidózishoz vezet. A kutyákon nyert adatokat emberre átszámítva (FC-75 légzés esetén) 1,7/min lenne a légzési frekvencia és 272 ml a perctérfogat. Ez nem elegendő a gázcsere tartós biztosítására [32]. A PFV-ek légzésének következményei között specifikus és nem specifikus patológias elváltozásokat írtak le a túlélő állatok tüdejében. A nem specifikus elváltozások hasonlítanak a fulladásban elpusztult állatokon nyert bonclelethez [32, 49, 57], specifikus elváltozás az alveolusokban megjelenő habos anyag és az azt fagocitáló sejtek („hab-sejtek”) megjelenése [57]. Az említett tüdő-elváltozásokon kívül a PFV-ek légzése szisztémás változásokkal, így általános lehűléssel (a PFV-ek rendkívül jó hővezetők, és a tüdőn keresztül lehűtik az állatot [64]) és a legtöbb szövetben zsíryanagysere változásokkal [75] is jár. A fentiek alapján a PFV-ek légzésének jelenlegi lehetőségei nem alkalmazhatók emberen. Az elképzelések szerint, ha sikerül kiküszöbölni a tüdőn létrejövő toxikus elváltozásokat, a PFV-ek esetleg a tüdő átmeneti feltöltésére lennének alkalmazhatók [16].

A perfluoro-vegyületek művérként történő alkalmazása

Nem sokkal a PFV-ek légzésére vonatkozó kísérleteket követően felmerült művérként történő alkalmazásuk lehetősége is. Rögtön kiderült azonban, hogy a PFV-ek intravénásan adva igen toxikusak, már néhány milliliter letális [3, 54]. A bonclelet minden esetben intravasalis véralvadásról, jelentős jobb-szívfél és tüdő-tágulatról, valamint esetenként tüdővérzésről tanúskodott [54]. Mint kiderült, a tüdő-tágulat részben intravasalis gázfelszabadulással kapcsolatos, mely a PFV-ek magas gőznyomásának következménye [17, 27]. Nyilvánvalóvá vált tehát, hogy a PFV-eket nem lehet egy fázisban (folyadékként) a keringésbe vinni, másrészt hogy csak a relatíve kisebb gőznyomású PFV-ek alkalmasak vérpótlásra [17].

A fentiek felismerése nyomán L. C. CLARK ultrahangos besugárzással nyúlplazmában diszpergálta az FC-43-at, és az így képzett emulzióval csere-transzfúziót végzett nyulakon, melyek vérük egyharmadának kicserélését túlélték [20]. Az emulzió stabilitását egy nem ionos detergenssel (Pluronic F-68-al) biztosították. GEYER és mtsai [27, 28, 30] patkánykísérletekben kimutatták, hogy az FC-43/Pluronic F-68 emulzió teljes vércsere esetén a reziduális vörösvérsejt és plazmafahérje mennyiségétől függően 4—8 óras vagy teljes túlélést képes biztosítani, ha az állatokat oxigénnel lélegeztetik be. SLOVITER és mtsai [72] egéren és békán bizonyították az FC-47/Pluronic F-68 emulzió hosszú ideig tartó oxigén-transzportáló képességét, CLARK és mtsai [20] pedig kutyákon. A biztató eredmények mellett kiderült azonban, hogy a hemostasis zavara és a leírt cardio-pulmonalis tünetegyüttes fellépése elkerülhetetlen [74]. A jelenség okára vonatkozóan sikerült tisztázni, hogy a PFV-ek trombocita-aggregációt okoznak következményes pulmonális mikroembolizációval és consumptios coagulopátiával [22, 41, 68, 69]. A felismerés olyan irányú továbblépésre ösztönözte a kutatókat, hogy próbálják megakadályozni a PFV és a trombociták, ill. alvadási faktorok közötti direkt kontaktust. E probléma megoldásának látszik az emulgeált PFV cseppjeinek „beburkolása”; ha a PFV-et tojás-lecitinnel együtt diszpergálják, a lecitin bevonatot képez a PFV cseppjei körül és ily módon megakadályozza a trombocita-aggregációt és trombocitopéniát [71]. A legújabb vérpótló készítményekben, így pl. a japán „Fluosol” típusokban a PFV-et tojás-lecitinnel (is) együtt emulgeálják a fenti megfontolásból.

A PFV-ek művérként történő alkalmazásában további problémát jelent ezen anyagok szöveti retenciója. A PFV-ek többsége mint tökéletesen inert, nem metabolizálódó anyag lerakódik és hosszú ideig tárolódik a máj és a lép RES* sejtjeiben. YOKOYAMA és mtsai [82] megállapították, hogy 1 hónap után az egereknek injektált FC-47 44%-a a májban és 8%-a a lépben marad. CLARK és mtsai [21] kutyákon azt találták, hogy 21—52 hónappal az FC-47 adása után annak 20—67%-a a májban és 2—4%-a a lépben marad. Bár e szervekben (eltekintve az esetenként észlelt hepatomegáliától) a PFV-ek káros hatását nem mutatták ki [34], a megfelelő ütemű elimináció biztosítása nyilvánvalóan kívánatos. E feltételnek az alacsony gőznyomású PFV-ek közül a ciklikus szerkezetűek (perfluorodecalin, perfluoro-metildecalin) felelnek meg leginkább, melyek néhány nap alatt távoznak a szervezetből a tüdőn és a bőrön keresztül [17, 18]. Hátrányuk azonban, hogy emulziójuk instabil [29], ezért az FC-47-el vagy más PFV-ekkel kombinálva használják vérpótló preparátum készítésére.

A PFV-ek terápiás felhasználása szempontjából a készítmények igen fontos paramétere az emulgeált részecskék nagysága. A 1 μm -es vagy annál nagyobb részecskék aggregálódhatnak, vérsejt-aggregációt okozhatnak és a májban, lépben is gyorsabban kiszűrődnek [29]. Az újabban kifejlesztett készítményekben ezért a 0,2 μm körüli részecske nagyságra törekednek, amit intenzív dezintegrálással (szonikálással) és végső lépésként 0,22 μm -es pórusméretű membrán-szűrőn történő átnyomással érnek el [29].

A III. táblázat bemutatja a kutatási célokra kifejlesztett (kereskedelmi forgalomban is kapható**) japán „Fluosol-DA” készítmény összetételét, a

* reticulo-endotheliális rendszer (= mononuclearis fagocita rendszer)

** Green Cross Corp., Osaka

III. táblázat

A Fluosol-DA összetétele (GEYER, 1978)
Table 3. The composition of Fluosol-DA

	g/100 ml
Perfluorodecalin	14,00
Perfluorotripropilamin	6,00
Pluronic F-68	2,70
Tojás-foszfolipidek	0,40
Glicerin	0,80
NaCl	0,48
KCl	0,027
MgCl ₂	0,015
CaCl ₂	0,022
NaHCO ₃	0,168
Glukóz	0,144
HES (hidroxietil-keményítő)	3,00
pH: 7,4–7,6	

IV. táblázat pedig egy tipikus patkány-vércsere kísérlet menetét, melyet a fenti művérrel végeztek.

IV. táblázat

Tipikus vércsere kísérlet menete Fluosol-DA-val
(GEYER, 1978)

Table 4. Experimental protocol of a typical exchange-transfusion with Fluosol-DA
(GEYER, 1978)

I. A Fluosol-DA összeállítás

Csak közvetlenül az összeállítás előtt felolvasztott készítmény használható. Az elektrolitokat és a HES-t közvetlenül a felhasználás előtt kell a rendszerhez adni. Csak a kísérlethez szükséges mennyiséget kell preparálni.

II. A vércsere

Enyhén altatott patkányokon a vér levétele a v. jugulárison, a művér beadása a farokvénán történik, 90%-os oxigén-atmoszférában. A vércserét 1%-os hematokritig kell folytatni konstans vértérfogat mellett.

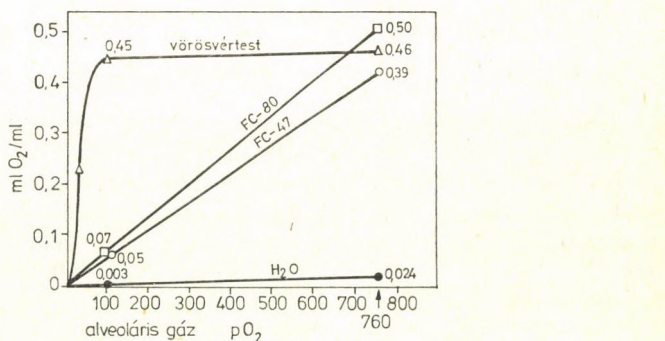
III. A vércserét követő időszak

Az állatok 90% oxigén, 10% nitrogén atmoszférában tartandók az étellel, vízzel együtt. Az oxigén koncentrációt naponta kell csökkenteni, majd 1 hét után az állatokat szabad levegőre kell helyezni. A túlélők 2–3 nap után rózsaszínűvé válnak.

A Fluosol-DA az élettani kísérletekben minden eddigi PFV-et felülmúlt, beleértve a korábbi Fluosol készítményeket, így az (FC-43-at tartalmazó) „Fluosol-43”-at és a (perfluorodecalint tartalmazó) „Fluosol-DC”-t [29, 53]. A IV. táblázatban bemutatott protokoll szerint végrehajtott teljes csere-transzfúziót (1% hematokritig) a patkányok tünetmentesen túléltek [29]. Kutya és majmok szintén túléltek a teljes cseretranszfúziót (1% hematokritig), ha 6 órán belül saját vérük 1/3-át visszakapták [53]. Nyulak 72 órával túléltek a súlyos haemorrhagiás sokkot, ha a Fluosol-DA infúziót naponta megismételték [53]. Kutyaon a Fluosol-DA keringési félideje 25 óra, patkányokban az elimináció félideje 8,9 nap [53]. A Fluosol-DA akut és szubakut toxicitása nem jelentős [53], excesszív adása azonban epilepsziás görcsöket okozhat [44]. Megfigyelték

továbbá, hogy teljes vércserére az anesztetizált állatok másképpen reagáltak, mint a nem anesztetizáltak, valamint hogy bizonyos esetekben a vércserét követően extrém limfocita és plazmafehérje szekréció indult meg [44].

Az első emberkísérletekre Fluosol-DA-val 1977-ben került sor Japánban; 10 önkéntes diáknak 500—500 ml emulziót adtak, mely semmilyen kóros klinikai tünetet nem okozott [44]. 1979-ben életmentő szerepében is kipróbálták a Fluosolt; Japánban és az Egyesült Államokban Jehovistákat mentettek meg vele [44]. Később Japánban sor került az első nagyszabású, 500 embert érintő klinikai kísérletsorozatra, melyben 500—1500 ml Fluosol-DA-t adtak a két csoportra (haemorrhagiás és kontroll) osztott kísérleti alanyoknak. A készítmény keringési fél-életideje közel 1 hét volt, az elimináció helyei a RES, a tüdő és a bőr. A kiterjedt klinikai vizsgálatok megállapították, hogy a Fluosol infúziót követően a vérnyomás átmenetileg átlag 25%-kal növekedett, majd normalizálódott. A haemorrhagiás csoportban a vérzési idő enyhe növekedését észlelték, mely 12—24 óra múlva normalizálódott. A hematokrit, hemoglobin, vörösvérsejt-szám, trombocita-szám és a SGOT szint szintén növekedtek, majd 1 héten belül normalizálódtak. Egyéb hematológiai paraméterek normálisak voltak, csakúgy mint a labor-leletek közül a thymol turbiditás, bilirubin, alkalis foszfatáz, amiláz, szérum-koleszterin és kolineszteráz, kreatinin, összfehérje, BUN, LDH, SGPT [44]. E biztató eredmények ellenére a japánok „kifutását” orvosi körökben meglehetősen szkepszissel fogadják. Várható ugyanis, hogy az állatkísérleteknél említett bizonytalanságok és a szöveti akkumuláció miatt a készítmény csak olyan limitált mennyiségben lesz adható, mely nem jelent különleges előnyöket a bevált plazmapótszerekkel szemben [44]. Nehézség továbbá, hogy a Fluosol-DA komponensei csak külön, fagyasztva tárolhatók. A feloldással és összeállítással járó idővesztés életveszély esetén kritikus lehet. A PFV-ek *II. táblázatban* bemutatott oxigén-oldási adatai — mint említettük —, csak oxigén-atmoszférában érvényesek. Az *I. ábra* adataiból kiderül, hogy az alveoláris légterében uralkodó fiziológiás pO_2 -on (100 Hgmm) a PFV jelentősen (7—9-szer) kevesebb oxigént kötnek az azonos térfogatú vérrel összehasonlítva. Következésképpen, a Fluosol oxigén-szállító képességének optimális kihasználásához hiperbárikus oxigén-belélegeztetés szükséges, ami további komplikációk forrása.



I. ábra. A vörösvérsejtek, perfluoro-vegyületek és a víz oxigén tartalma 37 °C-on, az oxigénnyomás függvényében

Fig. 1. The oxygen content of red blood cells, perfluoro-compounds and water as a function of the oxygen-pressure at 37 °C. (SLOVITER, 1975: published with permission of the author)

A perfluoro-vegyületeken alapuló művér alkalmazása szerv-perfúzióra

A PFV-eken alapuló művér igen jelentős potenciális alkalmazási területe az izolált szervek életben tartása transzplantáció vagy egyéb (pl. élettani kísérletek) céljából, ezért e kérdésre részletesebben kitérnénk.

Elsőként CLARK és GOLLAN [19, 31] mutatták ki, hogy az izolált patkányszív FX-80-al történő perfúziója átmenetileg biztosítja a szív működését. Nem sokkal később izolált patkány-agy preparátumon bizonyították, hogy az FX-80 emulzió mindaddig biztosítja az agy tökéletes elektromos és metabolikus aktivitását, amíg a perfúzió tart [46, 69, 70]. Az izolált és PFV-ekkel hosszú ideig perfundált vese életképességét és átültethetőségét is számos kísérletben bizonyították [5, 33, 34, 48].

Izolált tüdő hasonló életben tartásáról SLOVITER és mtsai [69, 73, 74] kimutatták, hogy a PFV-ekkel történő perfúzió a tüdőt direkt nem károsítja, csakis trombocita-aggregáló hatásuk révén. LOWENSTEIN és mtsai [45] explantált kutya-tüdőket 4 órán át oxigenált FX-80-al áramoltatták át, majd reinplantálták. E kezelés a reinplantációt követő (kontroll-csoportban tapasztalt) patológiás elváltozások egy részét kivédte.

Az izolált perfundált májra vonatkozó kísérletekből kiderült, hogy e szerv is életben tartható PFV-ekkel [33, 55, 56, 79], azonban érrendszeri eltéréseket [10], csökkent epe-képződést és ciszteinoxidációt, valamint hisztológiai eltéréseket [34] is detektáltak.

A perfluoro-vegyületeken alapuló művér egyéb felhasználásai

A PFV-ekre vonatkozó rész befejezésekként röviden megemlítenénk még két lehetséges alkalmazási területet. CLARK és mtsai [20], valamint DUNDAS [26] szív-tüdő gépek feltöltésére, ill. a vér oxigenálására használtak PFV-eket, és mint kimutatták, ez számos előnnyel jár a hagyományos eljáráshoz képest. A másik alkalmazási terület „science-fiction”-ra emlékeztet; LANDÉ és mtsai [42] PFV-el működő mesterséges kopoltyú terveit vázolták bűvárok számára, mely a tüdő-keringést rövidre zárva — a halakhoz hasonlóan — a víz alatt is biztosítaná a fiziológias vér-gáz szintet.

Fém-komplexek, mint lehetséges oxigén-transzportáló rendszerek

A vörösvérsejt-pótlás fenti címben jelzett megközelítése egyelőre inkább csak elvi lehetőség. A kiindulópont az a megfigyelés, hogy a hemoglobin nem az egyetlen anyag, mely reverzibilisen köti az oxigént, hanem a Fe^{2+} és más átmeneti fém-ionok (Co, Ir, Ru, Os, Rh) egyes komplexei vizes oldatban ugyancsak képesek [2]. E fémek nagy toxicitása miatt azonban gyakorlati szempontból csak a vas-komplexek jöhetnek számításba, azok közül is elsősorban a Fe^{2+} -porfirin komplex. Ez utóbbi önmagában csak alacsony hőmérsékleten (-45°C) és kis koncentrációban (10^{-4}M) képes reverzibilisen kötni az oxigént, magasabb hőmérsékleten és nagyobb töménységben irreverzibilisen oxidálódik [2]. A komplex polisztrén mátrixba építése [2], a vas oxigén-kötő helyeinek hidro-

fő csoportokkal történő leárnnyékolása [2] vagy legújabban, a poli-szubsztituált vas-porfirin komplex liposzóma (foszfolipid vezikulum) membránba építése [80] azonban hatásosnak látszik az oxigén-kötés reverzibilitásának visszaállításában.

Hemoglobin felhasználásán alapuló mesterséges vérkészítmények

Stroma-mentes hemoglobin oldat

A tisztított hemoglobin vérpótlóként történő alkalmazásának gondolata a század 30-as éveire nyúlik vissza, a kezdeti reményeket azonban hamar lehűtötte a felismerés, hogy a szabad hemoglobin vese-funkció zavarokat okoz [1]. Mint kiderült, ezt a hemoglobinnal együtt a keringésbe kerülő, vörösvérsejt-stróma eredetű foszfolipidek okozzák intravasalis coagulatio előidézésével [6, 60, 61, 63]. Ezen túlmenően BRAUN és mtsai [9] kimutatták, hogy a hem-fehérjék és származékaik nagy koncentrációban a vese tubuláris epithel sejteket direkt is károsíthatják. A hemoglobin oldat káros hatásainak kiküszöbölése nagy lendületet adott a stróma-mentes hemoglobinra (a továbbiakban SFHb) irányuló kutatásoknak. (A hemoglobin oldat stróma-mentesítése — többek között — membrán-szűréssel, vagy a fehérje kristályosításával történhet [24, 61].) A következőkben a SFHb sajátosságaira, *in vivo* viselkedésére vonatkozó főbb eredményeket tekintjük át.

A SFHb antigenitása. A SFHb emberen nem vált ki immunválaszt, feltehetően azért, mert az immuntolerancia kialakulásának idején a hemoglobin-A, A₂ és F nyomnyi mennyiségben jelen vannak a plazmában [83]. A hemoglobintól elválaszthatatlan (glikolitikus) enzimek lehetnek ugyan antigének, de nem ismeretes, hogy ez valamilyen tünetet okozna [83].

A SFHb eliminációja. A különböző kísérleti állatok keringésébe került szabad hemoglobin aránylag hamar, 2,5—5 óra felezési idővel eliminálódik. A kiválasztás két útja a RES sejtek és a vese. A gyors klirensz főként annak következménye, hogy a hemoglobin $\alpha\beta$ -dimérekre történő disszociációja a plazmában megnő, és a dimérek a haptoglobinhoz kötődve rövid idő alatt a RES sejtekbe kerülnek, ill. a vesében filtrálódnak [11]. A proximális tubulus reabszorpciós képességét meghaladó filtrálás esetén a hemoglobin a vizeletben is megjelenik. A fenti két eliminációs mechanizmus közül a RES játssza a nagyobb szerepet, így pl. 50%-os plazma-hemoglobin szintnél a vizelet hemoglobin-tartalma kuttyákon az össz beadott mennyiség 9,3%-a [61], patkányokon 10%-a [24], majmokon 30%-a [6].

A SFHb onkotikus nyomása. ZUCK és mtsai [83] kimutatták, hogy a szabad hemoglobin és az emberi plazmafehérjék fiziológiás keveréke kolloidkailag egyenértékűek, vagyis a kb. 7%-os hemoglobin oldat izonkotikusnak tekinthető. Vérsere vagy vérpótlás esetén a hemoglobin és a reziduális plazmafehérjék együttesen határozzák meg a vér onkotikus nyomását, tehát a hemoglobin adásakor számításba kell venni az aktuális plazmafehérje szintet [6, 36]. Tekintve, hogy a plazmafehérjék igen gyorsan pótlódnak, olyan hemoglobin koncentráció tekinthető vérpótlás céljából ideálisnak, amely csökkent plazmafehérje szintnél, a gyors elimináció ellenére is biztosítja a minimális (tolerábilis) onkotikus nyomást, ugyanakkor a plazmafehérje szint normalizálódása után sem okoz hiperozmózt. E kérdéses optimális hemoglobin koncentrációra

vonatkozóan utalnánk arra, hogy a kutatási célokra standardizált és forgalmazott „Biotest” SFHb preparátum* 6,1% hemoglobint tartalmaz [49].

A SFHb oxigén-szállító képessége. A szabad hemoglobin oxigén-kötő kapacitása normális (1,20—1,34 ml O₂/g Hb) [49], az oxigén-leadó (és felvevő) képességet meghatározó oxigén-affinitás azonban jelentősen nagyobb (p₅₀ = 10—21 Hgmm) a vörösvérsejtben levő hemoglobinnál (p₅₀ = 28 Hgmm). E jelenség több okra vezethető vissza, így a 2,3-difoszfoglicerinsav és a vörösvérsejt intracelluláris ion-miliójének hiányára, a plazma magasabb pH-jára és végül az alacsonyabb hemoglobin koncentrációra [49]. KAPLAN és MURTHY [38] úgy találták, hogy a szabad hemoglobin magas oxigén-affinitásának megfelelően mindaddig nem ad le a szövetekben oxigént, amíg a vörösvérsejtben levő hemoglobin képes erre. Ezen jelenséget MESSMER és mtsai [49] kvantitatívan is elemezték és megállapították, hogy a SFHb mindaddig nem vesz részt a szövetek oxigén-ellátásában, amíg a vörösvérsejtekből történő oxigén-extractio meg nem haladja a 40%-ot, valamint hogy 60—80%-os extractio esetén is csak minimális (20%-os) a SFHb-ből történő oxigén-extractio. A fentiekből következik, hogy kisebb vérvesztés és annak SFHb-al történő pótlása esetén a szövetek oxigén-ellátását gyakorlatilag a reziduális vörösvérsejtek látják el. ZUCK és mtsai [83] számításokat végeztek arra vonatkozóan, hogy mekkora vérvesztés pótlása esetén lenne kihasználható a SFHb oxigén-transzportáló képessége. Az eredmény kb. 75% lett, vagyis a hematokritnak kb. 11%-ra vagy ez alá kell süllyednie, hogy a SFHb adása hasznos legyen. Mindezek alapján a SFHb elsősorban nagyarányú vérvesztés pótlására indikálható, mely esetben különleges haszna — több szempontból is — egyértelmű, amint azt a következőkben említett kísérletek bizonyítják.

A SFHb in vivo hatásosságát bizonyító eredmények. RABINER és mtsai [62] kutyákon végeztek cseretranszfúziót (5%-os hematokritig) SFHb-al, plazmával és dextránnal, és megállapították, hogy a SFHb-os csoport túlélése egyértelműen jobb a többinél. MOSS és mtsai [52] páviánokon bizonyították a SFHb életmentő képességét alacsony hematokrit esetén. USAMI és mtsai [81] megállapították, hogy a SFHb javítja a mikrocirkulációt, mely sajátságos vérvesztéses sokk kezelésében nagy jelentőségű lehet [49]. Hasonlóan, felmerült a myocardialis infarctus SFHb-al történő kezelése is, tekintettel arra, hogy a SFHb javítja a mikrocirkulációt olyan szövetekbe is eljutva, mely a vörösvérsejtek számára már elérhetetlen [49].

Human kísérletek SFHb-al. RABINER [59] közleményében idézi egy leningrádi kongresszuson hallottakat, miszerint a leningrádi Sürgősségi Sebészeti Intézetben mintegy 30 balesetet szenvedett egyénnek adtak 200—400 ml, nem stróma-mentes, 3%-os hemoglobin oldatot. Vese- vagy egyéb károsodást nem tapasztaltak, ugyanakkor a vérnyomás stabilizálása és az általános közérzet javítása révén a hemoglobin oldat előnyösnek bizonyult. Ugyancsak Leningrádban, az Orvosegyetem Sebészeti Klinikáján 16 mellkasi műtétnél 0,4—2,0 liter hemoglobin oldatot adtak vérpótlóként. A vérnyomás, keringési idő, EKG, a fibrinolízis paraméterei és a methemoglobin szint normális volt az infúzió alatt és után. A szabad hemoglobin mintegy 20—25 perc múlva jelent meg a vizeletben, és a keringésből 8 órán belül tűnt el, 4 órás felezési idővel. Vesekárosodást nem tapasztaltak. Az arterio-venosus oxigén-különbség jóval

* Biotest-Serum-Institut GmbH, Frankfurt am Main, NSzK

meghaladta az *in vitro* oxigén-affinitás alapján számolt értéket, aminek magyarázataként feltételezik, hogy a plazma organikus foszfátjai csökkentik *in vivo* a hemoglobin oxigén-affinitását.

A hemoglobin oldatról eddigiekben elmondottakat összefoglalva megállapítható, hogy a SFHb megfelel az optimális művérrel szemben támasztott követelményeknek, amennyiben biztosítja a plazma onkotikus nyomását és ion-(puffer)-miliójét, nem toxikus, nem antigén, könnyen előállítható és tárolható. Gyakorlati alkalmazását két nagy hátránya korlátozza: az egyik a csökkent oxigén-leadó képesség, a másik az igen rövid keringési idő. E két probléma megoldására számos próbálkozás történt, melyeket a következőkben tekintünk át.

Kémiailag módosított hemoglobin oldat

A hemoglobin oxigén-affinitásának csökkentésére irányuló kísérletek. BENESCH és mtsai [4] a hemoglobin béta láncának N-terminális valinjához piridoxálfoszfátot (PLP) kötöttek, melynek következtében a SFHb oxigén-affinitása csökkent. *In vitro* a SFHb-PLP oxigén-affinitása a vörösvérsejteknek felel meg, ill. annál is alacsonyabb ($p_{50} = 24-34$ Hgmm) [49]. Az eredeti eljárást BONHARD [8] leegyszerűsítette, így *in vivo* kísérletekre is elegendő mennyiségű SFHb-PLP-t sikerült nyerni. A preparátum állatkísérletekben előnyösebbnek bizonyult a SFHb-nál, keringési ideje azonban hasonlóan rövid volt [37, 49].

A SFHb keringési idejének meghosszabbítására irányuló kísérletek. A hemoglobin gyors eliminációjának megelőzésére eddig kétféle megközelítés ismeretes;

1. A hemoglobin tetramer disszociációjának gátlása és a mólsúly növelése intra- és intermolekuláris keresztkötések létrehozásával, vagy egyéb kémiai módosítással,
2. A hemoglobin nagy mólsúlyú (poliszaharid) vegyületekhez kötése.

ad1. PAYNE [58] glutáraldehiddel, MOK és mtsai [51] különböző diimidált észterekkel intra- és intermolekuláris keresztkötéseket hoztak létre a hemoglobin-monomerek között. Ezzel egyrészt megakadályozták a disszociációt, másrészt 2—9 tetramerből álló polihemoglobint hoztak létre. MOK és mtsai idézett közleményében a polihemoglobin keringési fél-ideje 4—15-ször hosszabb volt a kontroll szabad hemoglobinénál, nyulakon. A fentiekén kívül a hemoglobin aminosav-maradékainak egyéb úton történő kémiai módosításával is sikerült már „kereszt-kötött” polihemoglobint létrehozni, így MACLEOD és HILL [47] difluor-dinitro-difenilszulfonátot, BENESCH és mtsai [4] formilpiridoxálfoszfátot használtak. CHIANCONE és mtsai [14] karboxipeptidáz-B kezeléssel gátolták a hemoglobin-disszociációt. Valamennyi említett próbálkozás közös eredménye, hogy a hemoglobin keringési ideje meghosszabbodott, az oxigén-affinitás azonban a (PLP-polihemoglobin kivételével) továbbra is magas maradt, a kooperativitás (vagyis az alegységek közötti kölcsönhatás, mely az oxigén-disszociációs görbét szigmoiddá teszi) pedig csökkent [35].

ad2. CHUA és BUSHUK [15], valamint COLOSIMO és mtsai [23] úttörő kísérletei (oldhatatlan agarózhoz, ill. dextranshoz kötötték a hemoglobint) nyomán TAM és mtsai [78] 200—275-ezres, CHANG és WONG [13] 20-, 40- és 70-ezres mólsúlyú oldható dextranshoz kötötték a hemoglobint és megállapították, hogy ezen komplexek keringési ideje jóval meghaladja a szabad hemoglobinét. Az oxigén-

affinitás azonban a szabad hemoglobinnél is magasabb, a kooperativitás pedig csökkent volt. Ennek ellenére BLUMENSTEIN és mtsai [7] kutyakísérletekben azt találták, hogy a szabad hemoglobin és a dextránhoz kötött hemoglobin (2%-os hematokrit esetén) azonos mértékben képes a szövetekhez oxigént szállítani (az arteriovenosus oxigén különbség egyforma). A dextrán-hemoglobin komplexszel kapcsolatban említésre méltó, hogy a poliszaharid immunológiai problémákat vet fel, így pl. a dextrán patkányoknak nem adható [29].

Mikrokapszulált hemoglobin

Az első próbálkozások a szabad hemoglobin mikrokapszulázására CHANG [12] nevéhez fűződnek, aki nylon és kollodion falu hemoglobin-mikrokapszulákat hozott létre. E gömböcskék átmérője 1 és 100 μm között változott, faluk szemipermeabilis, oxigén számára átjárható volt. Nem sokkal később japán kutatók dextrán-sztearát falu hemoglobin-mikrokapszulákat hoztak létre, melyek képesek voltak oxigén-felvétele [1]. ARAKAWA és KONDO [1] negatív felületi töltésű polifitaloil-lizin mikrokapszulákba zárták a juh-vérből preparált hemoglobint és megállapították, hogy e testek számos sajátossága megfelel a vörösvérsejtekének. Az *in vivo* alkalmazás legnagyobb akadálya e műsejtek viszonylag nagy mérete ($\sim 10 \mu\text{m}$) és rigiditása. A mikrokapszulázási kísérletek talán leginkább meghökkentő eredményét LÉVI és mtsai [43] írták le, akik kereszt-kötésekkel polimerizált hemoglobinnél képeztek mikrokapszulákat, és ebbe zárták a hemoglobint. Az így nyert testek átmérője 5 μm -nek bizonyult, és a pásztázó-elektronmikroszkópos képek tanúsága szerint meglepően hasonlóan a vörösvérsejtekhez, még a bikonkavitás is megvan. Az oxigén-affinitás magasabb a normálisnál ($p_{50} = 13 \text{ Hgmm}$), a disszociációs görbe szigmoid. A preparátum biodegradabilis és liofilizálható. A hemoglobin-kapszulázás szintén új és perspektivikus módszere a fehérje liposzómába, vagyis természetes foszfolipidekből álló mikroszkopikus vezikulumokba zárása. DJORDJEVICH és MILLER leírták [25], hogy koncentrált hemolizátumban diszpergált tojás-lecitin, koleszterin és foszfatid sav (vagy dicetilfoszfát) ultrahangos besugárzásával hemoglobin-tartalmú testecskék, „hemoszómák” nyerhetők. E képletek 0,1–10 μm nagyságúak, a szabad hemoglobintól centrifugálással könnyen elválaszthatók és plazmában vagy más fiziológiás közegben szuszpendálhatók. Megállapították, hogy a hemoszómák nem immunogének, felületi töltésük (zéta potenciáljuk) a vörösvérsejtekéhez hasonlóvá tehető, ozmotikus rezisztenciájuk nagy, és oxigén-affinitásuk megegyezik a vörösvérsejtekével. Patkánykísérletek tanúsága szerint a hemoszómával történt teljes vércsere anoxiát nem okozott, a kísérleti állatok pusztulását tromboemboliás vagy vérzéses szövődmény okozta. A maximális túlélés 100 perc volt. Munkacsoportunk hemoszómára irányuló kutatásaiban kimutatta, hogy a liposzómába zárt hemoglobin — a preparálási módszertől és lipid-összetételtől függően — hajlamos a fokozott oxidációra és denaturációra [76]. A foszfolipid kettősrétegek közé zárt hemoglobin közvetlenül és nagy felületen érintkezik a lipid-membránnal, mely káros kölcsönhatásokra, nevezetesen a lipidek peroxidatív bomlására, ill. methemoglobin és/vagy hemikróm* képződésre vezethet. E folyamatok lassíthatók ugyan, de a hemoszóma-készítmények tárolhatóságát, *in vivo* stabilitását mindenképpen problematikusá teszik. A hemoszómákkal kapcsolatos másik nagy nehézség a nagy

* A hemoglobin-denaturáció egyik közti terméke.

liposzómák rövid keringési ideje. A liposzóma irodalomból ismert [77], hogy a nagy, multilamelláris (1—2 μm -t meghaladó) vezikulumokat a RES sejtek — számos tényezőtől függően — néhány perc vagy óra alatt kiszűrik a keringésből. A kisebb méretű (unilamelláris) liposzómák lényegesen hosszabb ideig maradnak a keringésben, de ezek jóval kevesebb anyagot (hemoglobint) képesek magukba zárni, és stabilitásuk is kisebb a nagyobb, multilamelláris liposzómáknál. Ezen ellentmondás feloldása nyilvánvalóan valamilyen kompromisszumban rejlik, melyet a méret és bezárás között kell tenni.

Köszönetnyilvánítás

Szerző köszönetét fejezi ki R. W. CARRELL és H. A. SLOVITER professzoroknak a munkákhoz nyújtott segítségükért és biztatásukért, valamint HOLLÁN ZSUZSA akadémikusnak kritikai megjegyzéseikért. Hálásan köszönöm SIMON GYÖRGY támogatását, értékes szakmai tanácsait.

IRODALOM

1. ARAKAWA, M. and KONDO, T. (1977) Some biophysical and biochemical properties of poly(phthaloyl L-lysine) microcapsules containing hemolysate. *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, **55**, 1378—1382.
2. BALDWIN, J. E. (1975) Chelating agents as possible artificial blood substitutes. *Fed. Proc.*, **34**, 1441—1443.
3. BEISANG, A. A., FEEMSTER, J., DIETZMAN, R. H., UCHIDA, H., CARTER, J. E., GRAHAM, E. F. and LILLEHEI, R. C. (1970) Damage assay of kidneys frozen by intraarterial perfusion with a fluorocarbon. *Fed. Proc.*, **29**, 1782—1788.
4. BENESCH, R., BENESCH, R. E., JUNG, S. and EDALJI, R. (1975) Hemoglobin covalently bridged across the polyphosphate binding site. *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, **63**, 1123—1129.
5. BERKOWITZ, H. D., MCCOMBS, P., SHEETY, S., MILLER, L. D. and SLOVITER, H. A. (1976) Fluorochemical perfusates for renal preservation. *J. Surg. Res.*, **20**, 595—600.
6. BIRNDORF, N. I. and LOPAS, H. (1970) Effects of red cell stroma-free hemoglobin solution on renal function in monkeys. *J. Appl. Physiol.*, **29**, 573—578.
7. BLUMENSTEIN, J., TAM, S.-C., CHANG, J. E. and WONG, J. T.-F. (1978) Experimental transfusion of dextran-hemoglobin. In: JAMIESON, G. A. and GREENWALT, T. J. (eds.): *Blood substitutes and plasma expanders*. Alan R. Liss, Inc., New York, 205—212.
8. BONHARD, K. (1975) Acute oxygen supply by infusion of hemoglobin solutions. *Fed. Proc.*, **34**, 1466—1467.
9. BRAUN, S. R., WEISS, F. R., KELLER, A. I., CICCONE, T. F. and PRUESS, H. G. (1970) Evaluation of the renal toxicity of heme proteins and their derivatives: a role in the genesis of acute tubule necrosis. *J. Exp. Med.*, **131**, 443—460.
10. BROWN, H. and HARDINSON, W. G. (1972) Fluorocarbon sonicated as a substitute for erythrocytes in rat liver perfusion. *Surgery*, **71**, 388—394.
11. BUNN, H. F., ESHAN, W. T. and BULL, R. W. (1969) The renal handling of hemoglobin. I. Glomerular filtration. *J. Exp. Med.*, **129**, 909—923.
12. CHANG, T. M. S. (1964) Semipermeable microcapsules. *Science*, **146**, 524—525.
13. CHANG, J. E. and WONG, J. T. (1977) Synthesis of soluble dextran-hemoglobin complexes of different molecular sizes. *Can. J. Biochem.*, **55**, 398—403.
14. CHIANCONE, E., ANDERSON, N. M., ANTONINI, E., BONAVENTURO, J., BONAVENTURO, C., BRUNORI, M. and SPAGNUOLO, C. (1974) Effect of heme and non-heme ligands on subunit dissociation of normal and carboxypeptidase-digested hemoglobin. Gel filtration and flesh photolysis studies. *J. Biol. Chem.*, **249**, 5689—5694.

15. CHUA, G. K. and BUSHUK, W. (1969) Purification of wheat proteases by affinity chromatography on hemoglobin-Sepharose column. *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, **37**, 545—550.
16. CLARK, L. C. JR. (1970) Introduction to the symposium on inert organic liquids for biological oxygen transport. *Fed. Proc.*, **29**, 1698.
17. CLARK, L. C. JR. (1978) Perfluorodecalin as a red cell substitute. In: JAMIESON, G. A. and GREENWALT, T. J. (eds.): *Blood substitutes and plasma expanders*. Alan R. Liss, Inc., New York, 69—80.
18. CLARK, L. C. JR., BECATTINI, F., KAPLAN, S., OBROCK, V., COHEN, D. and BECKER, C. (1973) Perfluorocarbons having a short dwell time in the liver. *Science*, **181**, 680—682.
19. CLARK, L. C. JR. and GOLLAN, F. (1966) Survival of mammals breathing organic liquids equilibrated with oxygen at atmospheric pressure. *Science*, **152**, 1755—1756.
20. CLARK, L. C. JR., KAPLAN, S., BECATTINI, F. and BENZING, G. (1970) Perfusion of whole animals with perfluorinated liquid emulsion using the Clark Bubble-defoam heart-lung machine. *Fed. Proc.*, **29**, 1764—1770.
21. CLARK, L. C. JR., WESSELER, E. P., KAPLAN, S., MILLER, M. L., BECKER, C., EMORY, C., STANLEY, L., BECATTINI, F. and OBROCK, V. (1975) Emulsions of perfluorinated solvents for intravascular gas transport. *Fed. Proc.*, **34**, 1468—1477.
22. COLMAN, R. W., CHANG, L. K., MUKHERJI, B. and SLOVITER, H. A. (1980) Effects of a perfluoro erythrocyte substitute on platelets *in vitro* and *in vivo*. *J. Lab. Clin. Med.*, **95**, 553—562.
23. COLOSIMO, A., STEFANINI, S., BRUNORI, M. and ANTONINI, E. (1973) The equilibrium of matrix-bound hemoglobin. *Biochem. Biophys. Acta.*, **328**, 74—80.
24. DEVENUTO, F., MOORES, W. Y., ZEGNA, A. I. and ZUCK, T. F. (1977) Total and partial blood exchange in the rat with hemoglobin prepared by crystallization. *Transfusion*, **17**, 555—556.
25. DJORDJEVICH, L. and MILLER, I. F. (1980) Synthetic erythrocytes from lipid encapsulated hemoglobin. *Exp. Hematol.*, **8**, 584—592.
26. DUNDAS, D. F. (1970) Fluorocarbon liquid oxygenator. *Fed. Proc.*, **29**, 1771—1772.
27. GEYER, R. P. (1970) Whole animal perfusion with fluorocarbon dispersions. *Fed. Proc.*, **29**, 1758—1763.
28. GEYER, R. P. (1975) "Bloodless" rats through the use of artificial blood substitutes. *Fed. Proc.*, **34**, 1499—1505.
29. GEYER, R. P. (1978) Substitutes for blood and its components. In: JAMIESON, G. A. and GREENWALT, T. J. (eds.): *Blood substitutes and plasma expanders*. Alan R. Liss, Inc., New York, 1—21.
30. GEYER, R. P., MONROE, R. G. and TAYLOR, K. (1968) Survival of rats having red cells totally replaced with emulsified fluorocarbon. *Fed. Proc.*, **27**, 384.
31. GOLLAN, F. and CLARK, R. M. (1968) Experimental pathology after respiration and injection of various fluorocarbon liquids. *Exp. Med. Surg.*, **26**, 249—262.
32. GOLLAN, F., McDERMOTT, J., JOHNSON, A. E. and NAMON, R. (1970) Compliance and diffusion during respiration with fluorocarbon fluid. *Fed. Proc.*, **29**, 1725—1730.
33. HALL, C. A. (1975) Perfluorocarbon emulsion in the perfusion of canine organs. *Fed. Proc.*, **34**, 1513—1514.
34. HALL, C. A. and RAPPAZZO, M. E. (1978) Organ perfusion with perfluorocarbon. In: JAMIESON, G. A. and GREENWALT, T. J. (eds.): *Blood substitutes and plasma expanders*. Alan R. Liss, Inc., New York, 41—56.
35. HOROWITZ, B. and MAZUR, A. (1978) Oxygen equilibrium and structural studies of amidated human hemoglobin. In: JAMIESON, G. A. and GREENWALT, T. J. (eds.): *Blood substitutes and plasma expanders*. Alan R. Liss, Inc., New York, 149—165.
36. HOLDEFER, W. F., FACS, M. D. and DOWLING, E. A. (1973) Heterologous stroma-free hemoglobin as a whole blood substitute: experimental use. *Surg. Forum.*, **24**, 18—20.
37. JESCH, F., ENDRICH, B. and MESSMER, K. (1976) Oxygen transport and hemodynamics of stroma-free hemoglobin solutions. *Adv. Exp. Med. Biol.*, **75**, 105—112.
38. KAPLAN, H. R. and MURTHY, V. S. (1975) Hemoglobin solution: a potential oxygen transporting plasma volume expander. *Fed. Proc.*, **34**, 1461—1465.
39. KYLSTRA, J. A. (1962) Breathing fluid. *Experientia*, **18**, 68.
40. KYLSTRA, J. A. (1965) Survival of submerged mammals. *New Engl. J. Med.*, **272**, 198—200.
41. LAU, P., SHANKAR, V. S., MAYER, L. L., WURZEL, H. A. and SLOVITER, H. A. (1975) Coagulation defects in rabbits after infusion of dispersed fluorochemicals. *Transfusion*, **15**, 432—438.
42. LANDÉ, A. J., CLAFF, C. L., SONSTEGARD, L., ROBERTS, R., PERRY, C. and LILLEHEI, C. W. (1970) An extracorporeal artificial gill utilizing liquid fluorocarbon. *Fed. Proc.*, **29**, 1805—1808.

43. LÉVY, M.-C., RAMBOURG, P., LÉVY, J. and POTRON, G. (1982) Microcapsulation IV: Cross-linked hemoglobin microcapsules. *J. Pharm. Sci.*, **71**, 759—762.
44. LOCKYER, J. W. (1982) Oxygen carrying compounds as an alternative to red cells in transfusion therapy. In: *Current problems in blood transfusion practice*. Proceedings of a symposium held in Dunedin, New Zealand 1—3.
45. LOWENSTEIN, E., LINCOLN, J. C. R., MODELL, J. H., AUSTEN, W. G. and LAVER, M. B. (1970) Preservation of excised canine lungs by ventilation with liquid fluorocarbon. *Fed. Proc.*, **29**, 1775—1777.
46. MAYEVSKY, A., MIZAWA, I. and SLOVITER, H. A. (1981) Surface fluorometry and electrical activity of the isolated rat brain perfused with artificial blood. *Neurological Res.*, **3**, 307—316.
47. MACLEOD, R. M. and HILL, R. J. (1970) Reaction of human CO hemoglobin with p,p'-difluoro-m,m'-dinitrodiphenylsulfone. *J. Biol. Chem.*, **245**, 4875—4879.
48. MCCULLOUGH, W. B., JACOBS, J. R. and HALÁSZ, N. A. (1969) Renal perfusion and preservation with fluorocarbon emulsion. *Surg. Forum.*, **20**, 308—309.
49. MESSMER, K., JESCH, F., SCHAFF, J., SCHÖNBERG, M., PIELSTICKER, K. and BONHARD, K. (1978) Oxygen supply by stroma-free hemoglobin. In: JAMIESON, G. A. and GREENWALT, T. J. (eds.): *Blood substitutes and plasma expanders*. Alan R. Liss, Inc., New York, 175.
50. MODELL, J. H., NEWBY, E. J. and RUIZ, B. C. (1970) Long-term survival of dogs after breathing oxygenated fluorocarbon liquid. *Fed. Proc.*, **29**, 1731—1736.
51. MOK, W., CHEN, D. and MAZUR, A. (1975) Cross-linked hemoglobins as potential plasma protein extenders. *Fed. Proc.*, **34**, 1458—1460.
52. MOSS, G. S., DEWOSKIN, R., ROSEN, A. L., LEVINE, H. and PALANI, C. K. (1976) Transport of oxygen and carbon dioxide by hemoglobin-saline solution in the red cell-free primate. *Surg. Gynecol. Obstet.*, **142**, 357—362.
53. NAITO, R. and YOKOYAMA, K. (1978) An improved perfluorodecalin emulsion. In: JAMIESON, G. A. and GREENWALT, T. J. (eds.): *Blood substitutes and plasma expanders*. Alan R. Liss, Inc., New York, 81—84.
54. NOSÉ, A., KON, T., WEBER, D., MRAVA, G., MALCHESKY, P., MACDERMOTT, H., WILLIAMS, C. JR., LEWIS, L., HOFFMAN, G., WILLIS, C., DEODHAR, S., HARRIS, G. and ANDERSON, R. (1970) Physiological effects of intravascular fluorocarbon liquids. *Fed. Proc.*, **29**, 1789—1804.
55. NOVÁKOVÁ, V., BIRKE, G. and PLANTIN, L.-O. (1974) Synthesis of serum albumin in isolated rat liver perfused by a synthetic medium with fluorocarbon FC-80 emulsion as oxygen carrier. *Acta Phys. Scand.*, **92**, 289—302.
56. NOVÁKOVÁ, V., BIRKE, G., PLANTIN, L.-O. and WRETTLIND, A. (1975) Studies on isolated rat liver perfused by perfluoro-compound emulsion. *Fed. Proc.*, **34**, 1488—1492.
57. PATEL, M. M., SZANTO, P., YATES, B. and LONG, D. M. (1970) Survival and histopathologic changes in lungs of hamsters following synthetic liquid breathing. *Fed. Proc.*, **29**, 1740—1745.
58. PAYNE, J. W. (1973) Polymerization of proteins with glutaraldehyde. Soluble molecular-weight markers. *Biochem. J.*, **135**, 867—873.
59. RABINER, S. F. (1975) Hemoglobin solution as a plasma expander. *Fed. Proc.*, **34**, 1454—1457.
60. RABINER, S. F. and FRIEDMAN, L. M. (1968) The role of intravascular haemolysis and the reticulo-endothelial system in the production of a hypercoagulable state. *Brit. J. Haemat.*, **14**, 105—118.
61. RABINER, S. F., HELBERT, J. R., LOPAS, H. and FRIEDMAN, L. H. (1967) Evaluation of a stroma-free hemoglobin solution for use as a plasma expander. *J. Exp. Med.*, **126**, 1127—1142.
62. RABINER, S. F., O'BRIEN, K., PESKIN, G. W. and FRIEDMAN, L. H. (1970) Further studies with stroma-free hemoglobin solution. *Ann. Surg.*, **171**, 615—622.
63. RABINER, S. F. and ROSENFELD, S. (1963) Role of intravascular hemolysis and the reticulo-endothelial system in the production of hypercoagulable state. *J. Lab. Clin. Med.*, **62**, 1005.
64. RAHN, H. (1970) Discussion on liquid breathing. *Fed. Proc.*, **29**, 1753—1754.
65. RELIHAN, M. and LITWIN, M. S. (1972) Effects of stroma-free hemoglobin solution on clearance rate and renal function. *Surgery*, **71**, 395—399.
66. SARGENT, J. W. and SEFFL, J. R. (1970) Properties of perfluorinated liquids. *Fed. Proc.*, **29**, 1699—1703.
67. SCHMOLKA, I. R. (1975) Artificial blood emulsifiers. *Fed. Proc.*, **34**, 1449—1453.

68. SLOVITER, H. A. (1975) Perfluoro compounds as artificial erythrocytes. *Fed. Proc.*, **34**, 1484—1487.
69. SLOVITER, H. A. (1978) Perfusion of the brain and other isolated organs with dispersed perfluoro compounds. In: JAMIESON, G. A. and GREENWALT, T. J. (eds.): *Blood substitutes plasma expanders*. Alan R. Liss, Inc., New York, 27—39.
70. SLOVITER, H. A. and KAMIMOTO, T. (1967) Erythrocyte substitute for perfusion of brain. *Nature*, **216**, 458—460.
71. SLOVITER, H. A. and MUKHERJI, B. (1982) Lipid-coated emulsions of perfluoro compounds as artificial blood. International Congress of ISH-ISBT. Budapest. Abstract 417.
72. SLOVITER, H. A., PETKOVIC, M., OGOSHI, S. and YAMADA, H. (1969) Dispersed fluorochemicals as substitutes for erythrocytes in intact animals. *J. Appl. Physiol.*, **27**, 666—668.
73. SLOVITER, H. A., STEINBERG, H. and FISHER, A. B. (1974) Effect of dispersed fluorochemical on isolated perfused lung. *Fed. Proc.*, **33**, 323.
74. SLOVITER, H. A., YAMADA, H. and OGOSHI, S. (1970) Some effects of intravenously administered dispersed fluorochemicals in animals. *Fed. Proc.*, **29**, 1755—1757.
75. SPITZER, H. L., SACHS, G. and CLARK, L. C. JR. (1970) Fluorocarbon effects on tissue metabolism. *Fed. Proc.*, **29**, 1746—1750.
76. SZE BENI, J., BREUER, J. H., SZELÉNYI, J. G., BÁTHORI, G., LELKES, G. and HOLLÁN, S. R. (1984) Oxidation and denaturation of hemoglobin encapsulated in liposomes. *Biochem. Biophys. Acta*, **798**, 60—67.
77. SZE BENI J. és BÁTHORI G. (1981) Foszfolipid vezikulák (liposzómák) az alap kutatásban és az orvosi gyakorlatban. *Biológia*, **29**, 3—28.
78. TAM, S. C., BLUMENSTEIN, J. and WONG, J. T. (1976) Soluble dextran-hemoglobin complex as a potential blood substitute. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **73**, 2128—2131.
79. TRINER, L., VEROSKY, M., HABIF, D. V. and NAHAS, G. G. (1970) Perfusion of isolated liver with fluorocarbon emulsions. *Fed. Proc.*, **29**, 1778—1781.
80. TSUCHIDA, E., NISHIDA, H., SEKINE, M. and YAMAGISHI, A. (1983) Liposomal heme as oxygen carrier under semiphysiological conditions. Orientation study of heme embedded in a phospholipid bilayer by an electrooptical method. *Biochem. Biophys. Acta*, **734**, 274—279.
81. USAMI, S., CHIEN, S. and GREGERSEN, M. I. (1971) Hemoglobin solution as a plasma expander: effects on blood viscosity. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **136**, 1232—1235.
82. YOKOYAMA, K., YAMANOUCI, K., WATANABE, M., MATSUMOTO, T., MURASHIMA, R., DAIMOTO, T., HAMANO, T., OKAMOTO, H., SUYAMA, T., WATANABE, R. and NAITO, R. (1975) Preparation of perfluorodecalin emulsion, an approach to the red cell substitute. *Fed. Proc.*, **34**, 1478—1483.

ARTIFICIAL BLOOD SUBSTITUTES

Szebeni, J.

National Institute of Haematology and Blood Transfusion, Budapest, Hungary

For a number of years different substances have been actively studied in order to provide a suitable alternative to red cells for transporting oxygen and carbon dioxide. Such substances include perfluorochemicals, different forms of hemoglobin (Hb) solutions and microcapsulated Hb.

The perfluorochemicals (fluorocarbons) are inert organic liquids with high gas-solubility and chemical stability. They transport oxygen in physically dissolved form, however, increased atmospheric oxygen pressure is needed to come up with the transport rate of the blood. Properly dispersed perfluorochemicals have been successfully applied as artificial blood both in animal and human experiments, but the problems on incomplete and slow elimination, low oxygen-carrying capacity at ambient atmosphere and complicated procedure of preparation and storage remain to be solved.

The use of Hb solution as oxygen-transporting medium has two major unsolved problems: (1) the short dwell time of Hb in the circulation, and (2) the increased oxygen-affinity of free Hb with consequent decrease of oxygen delivery to the periphery. To overcome the problem of rapid elimination of Hb, polymerisation of the protein or binding it to polysaccharide macromolecules could result about an order of magnitude increase of circulation time. The oxygen-affinity of free Hb could be decreased by binding piridoxal-phosphate to it. Human experiments with Hb-solutions in emergency situations were reported to be successful.

Encapsulation of Hb in microcapsules of different composition is expected to provide increased in vivo life-time, and to keep the oxygen-affinity of Hb at a low level. The latest proposal in this area is encapsulation of Hb in metabolizable phospholipid vesicles (liposomes). These structures (called "hemosome") were shown in rats not to be immunogenic, and provided survival even after complete exsanguination. However, depending on the vesicle composition and preparation method, Hb is prone to undergo oxidation and denaturation in liposomes, therefore, the stability of the preparation is a critical point.

CHLOROQUIN KEZELÉS HATÁSA A HORMONKEZELT SEJTEK FUNKCIÓVÁLTÁSÁRA ÉS A HORMONÁLIS IMPRINTINGRE TETRAHYMENÁBAN

DARVAS ZSUZSA, CSABA GYÖRGY ÉS LÁSZLÓ VALÉRIA

Semmelweis Orvostudományi Egyetem Biológiai Intézete, Budapest

Beérkezett: 1984. május 19-én

Kulcsszavak: chloroquin, hormonális imprinting, szerotonin, hisztamin, dijódtirozin

Az egysejtű *Tetrahymena*, bár saját maga hormonális rendszerrel nem rendelkezik, nemcsak tartalmaz hormonokat [11], hanem azokra reagálni, ill. azokat kötni is képes [2, 3]. A kötés éppúgy a *Tetrahymena* membránján történik, mint a magasabb rendű állatok célsejtjein.

A sejtmembrán állandó megújulási folyamaton megy keresztül. A fibroblasztok például minden órában teljes felszínük mintegy 50%-át internalizálják pinocitózis révén, ennek ellenére a sejt általános mérete és vacuoláris rendszere napokon keresztül is állandó marad [13]. A hormon kötésben, ill. az arra adott válaszban sem mutatkoznak különbségek, mivel a membránnal internalizálódott receptorok reciklizálódnak, és pótolják a sejtbe bejutottakat. A *Tetrahymena*-ban a helyzet kissé eltérő a magasabb rendű sejtektől, ugyanis míg ez utóbbiakban (pl. a soksejtű szervezetekben) a receptorok előre meghatározott genetikai program alapján jönnek létre, addig a *Tetrahymena*-ban a hormonokkal való első találkozás hatására kell kialakulniuk [4]. Feltételezve, hogy a membránban folyamatosan vándorló fehérjék mintegy rákérdeznak környezetükre [10], bizonyos időtartam szükséges ahhoz, hogy olyan mennyiségű membrán cserélődjék, amelyben az új struktúra létrejöhet. Éppen ezért az is feltételezhető, hogy a membrán reciklizáció gátlása, vagy a reciklizálódó membrán foglyul ejtése a sejtben [12] csökkenti a receptor képződést, így a sejt válaszána létrejövetelét is.

Amikor a hormon először találkozik a *Tetrahymena*-val arra döntő hatást gyakorol. Egyrészt átállítja a sejt működését, ami azt jelenti, hogy a továbbiakban — és az utódgenerációban — valamely a hormon által befolyásolt funkcionális index megváltozik, pl. osztódása intenzívebb lesz, mint korábban volt [7]. Másrészt létrejön a hormonális imprinting melynek eredményeként a hormonnal való további találkozások alkalmával a sejt válasza kifejezettebb lesz, pl. a spontán „eredetinel” és a spontán „átállítottnál” is gyorsabban osztódik [2, 3, 7]. Mivel a két jelenséghez az első találkozás alkalmával a sejtmembránnal való hosszabb idejű együttlét szükséges [8], abban a membrán reciklizációnak szerepe lehet, és gátlása e két mechanizmust is károsíthatja.

Anyag és módszer

Kísérleteinkben a *Tetrahymena pyriformis* GL törzs 28 °C-on 1% élesztő-kivonatot tartalmazó 1% Bacto trypton táptalajban fenntartott tenyészetekt használtuk fel. A kísérletsorozatban 3 féle hormon önálló, ill. chloroquinnal kombinált hatását, ill. a chloroquin önálló hatását vizsgáltuk meg. A három vizsgált hormon, a szerotonin (5-HT, Fluka, Svájc), a hisztamin (Histaminum hydrochloricum, Reanal, Budapest) és a dijódtirozin (T_2 , Fluka, Svájc) volt. A felhasznált dózis a felsorolás sorrendjében 10^{-8} , 10^{-6} M, 10^{-8} M volt. A chloroquint $20 \mu\text{M}$ -os koncentrációban használtuk.

Mind a három hormon és a chloroquin esetében 4 órás és 24 órás előkezelést végeztünk, majd az előkezelés után táptalajjal történő kimosást követően 1 hétig normál táptalajon tartottuk fenn a tenyészeteket. Egy hét múlva a csoportokat felosztottuk, és minden csoportban végeztünk, ill. nem végeztünk ismételt kezelést a hormonokkal. Chloroquinnal ismételt kezelést nem végeztünk.

A T_2 és a szerotonin esetében az ismételt kezelés 24 órás volt, és kapillárisban történt, majd 24 óra múlva vizsgáltuk a szaporodás mértékét. Az eredményeket a kontroll (kezeletlen) csoport értékeihez viszonyítottuk.

Hisztamin esetében az egy hét után 24 óráig éhezettük a tenyészeteket Losina-Losinsky oldatban, majd ismételt, ill. nem ismételt hormonkezelés után 10 perces tusetetést végeztünk. Utána a sejteket 4%-os PBS-es formalinnal fixáltuk, centrifugáltuk (500 g), és a mosott sejteket tárgylemezre cseppentve beszárítottuk. A lemezeken minden csoportban 100–100 állat tustartalmú vacuolumait számoltuk le, és hasonlítottuk a kontroll-csoportéhoz; így kaptuk meg a fagocita-koefficiens értékeit.

A csoportok elrendezése tehát a következő: C = kezeletlen; C+X (az X-hez valamelyik hormon helyettesítendő be) = 24 órás hormonkezelés a kapillárisban. C1/C, 4 vagy 24 = 4, ill. 24 órás előkezelés chloroquinnal, a kapillárisban nem kapott kezelést; C1/X, 4 vagy 24 = 4, ill. 24 órás előkezelés chloroquinnal, a kapillárisban 24 órás kezelés valamelyik hormonnal; X/C, 4 vagy 24 = 4, ill. 24 órás hormon előkezelés, a kapillárisban nem kapott kezelést; X/X 4 m 24 = 4 vagy 24 órás hormon előkezelés, a kapillárisban 24 órás hormonkezelés; C1+X/C, 4 vagy 24 = chloroquinnal és hormonnal végzett előkezelés, a kapillárisban nem kapott kezelést; C1+X/X 4 vagy 24 órás chloroquinnal és hormonnal végzett előkezelés, a kapillárisban 24 órás hormonkezelés.

A hisztaminos csoportok esetében az eltérés az, hogy van egy C+C1 csoport is, ahol 10 perces chloroquin kezelés történik, és a többi csoportban is eltérő a kezelés ideje, nem 24 óráig, hanem csak 10 percig tart.

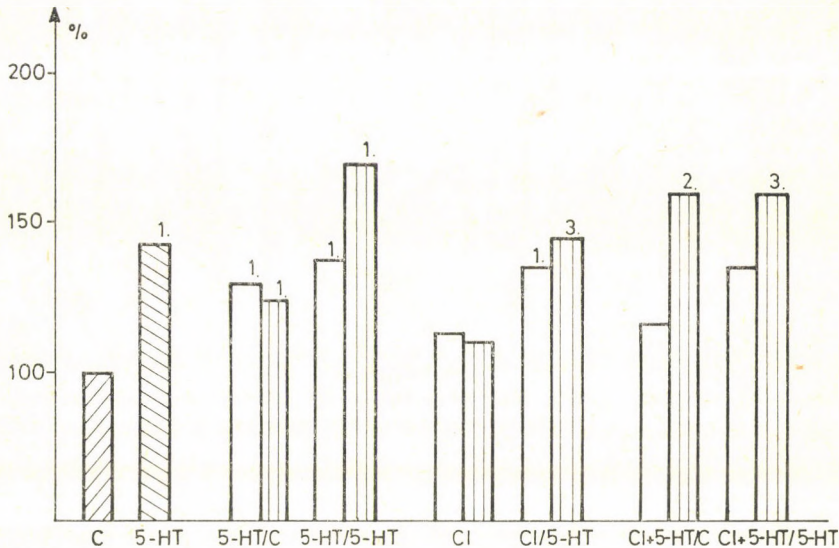
Az eredmények szignifikanciáját Student „t” teszt segítségével értékeltük.

Eredmények és megvitatás

Mindhárom vizsgált hormon növelte a hozzá tartozó indexet a Tetrahymenában, a T_2 és 5HT fokozta a sejtosztódást, és a hisztamin növelte a fagocitózist, mint ez már korábbi kísérleteinkből is kiderült [5, 6]. A jelen vizsgálati rendszerben azonban csak a szerotonin váltott ki imprintinget, tehát fokozódott a hatás egy hét után a 2. kezelés alkalmával az elsőhöz képest, a másik két hormonnal ez nem volt jellemző. E jelenség, bár ritkán fordul elő, nem precedens nélküli, tekintve, hogy az imprintinget számos tényező befolyá-

solja, és a jelen kísérletben a korábbiaknál magasabb hőmérsékletet használtunk, így a sejtosztódási ráta nagymértékben emelkedett meg és különösen az alapszint a hormonkezelésre állítódott át úgy, hogy erre az ismételt T_2 kezelés nem tudott „rátenni”.

A szerotoninos kísérletekből (1. ábra) világosan látható, hogy a chloroquin önmagában egy hét után vizsgálva nem befolyásolta a sejtosztódás mértékét. Nem befolyásolta számottevően az imprintinget sem, azonban a kombinált kezelésben részesült kultúrákban (CI+5HT/5HT) ez éppen olyan mértékű,

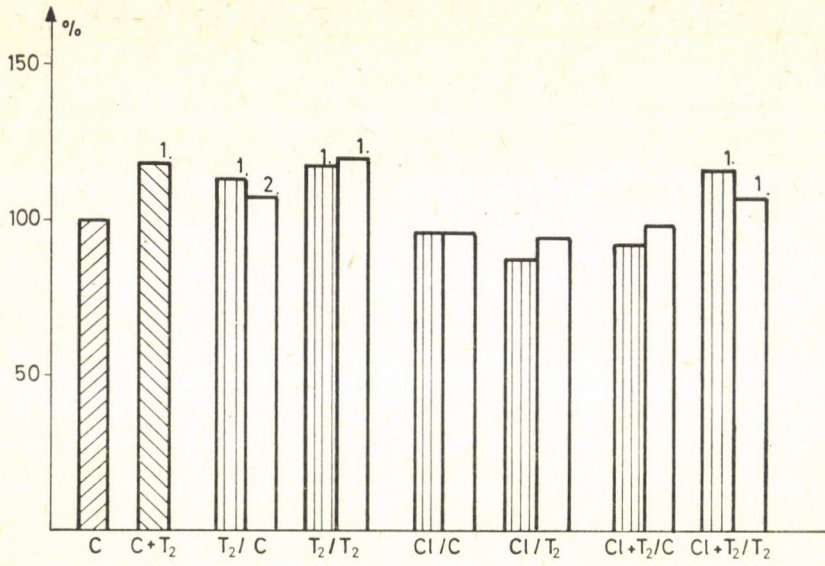


1. ábra. Szerotonin és chloroquin önálló és kombinált hatása a Tetrahymena sejtosztódására és az imprintingre

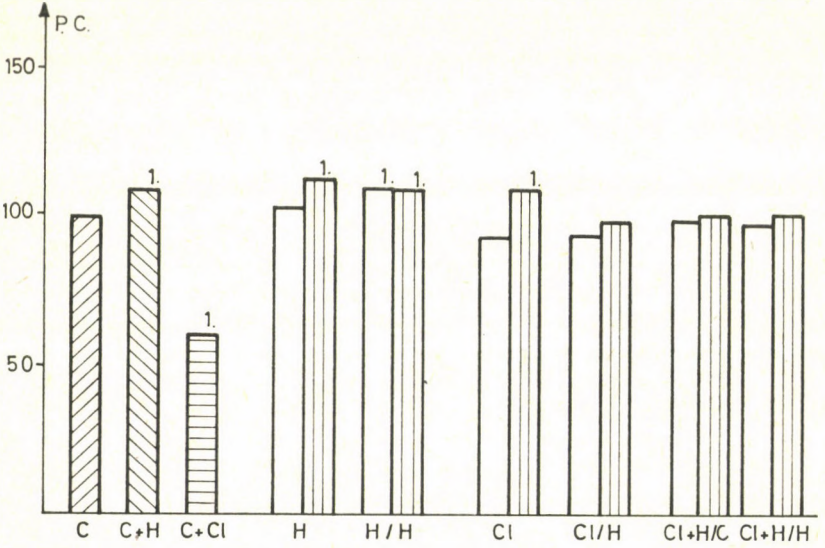
Fig. 1. Solitary and combined effect of serotonin and chloroquine to the growth of Tetrahymena and to the imprinting

mint a csak 5HT-val kezelt tenyészetekben (5HT/5HT). Ugyanakkor feltűnő legalábbis a 24 órás előkezelés vonatkozásában, hogy a kombinált kezelésben részesült tenyészetek osztódási rátája azonos, akár kaptak egy hét múlva 5HT kezelést, akár nem. Ez arra utal, hogy a sejtműködés hormonális átállítása (az első találkozás alkalmával), amelyet már korábban leírtunk [4, 7], és most a jelenlegi kísérletben az 5HT/C kultúrákban is megmutatkozik, a chloroquin kombináció esetében sokkal kifejezettebb.

A T_2 a Tetrahymena szaporodásának erős stimulátora [6]. A jelen kísérletben a chloroquin kezelés nem befolyásolta a Tetrahymenák szaporodását, de nem engedte kifejlődni a T_2 szaporodást fokozó hatását (2. ábra). Ez egyrészt akkor érvényes, ha a tenyészetek chloroquinnal voltak előkezelve, másrészt akkor, ha kombinált előkezelés történt, és egy hét múlva nem történt hormonkezelés. Ha egy hét múlva újra kezeltünk T_2 -vel, a T_2 serkentő hatása megmutatkozott, ez arra utal, hogy a T_2 előkezelés imprintáló hatása a chloroquin jelenléte ellenére nem volt közömbös a sejt számára.



2. ábra. Dijódtirozin és chloroquin önálló és kombinált hatása a Tetrahymena sejtosztódására és az imprintingre
 Fig. 2. Solitary and combined effect of diiodotyrosine and chloroquine to the growth of Tetrahymena and to the imprinting



3. ábra. Hisztamin és chloroquin önálló és kombinált hatása a Tetrahymena fagocitózisára és az imprintingre
 Fig. 3. Solitary and combined effect of histamine and chloroquine to the growth of Tetrahymena and to the imprinting

A hisztamin a *Tetrahymena* fagocitózist serkenti [2, 3, 5], a chloroquin a lizoszómákra hatva a fagocitózist csökkenti [1, 9, 12, 13]. Mindkét esemény be is következett akkor, ha külön-külön vizsgáltuk ezen anyagokat és az első kezelés hatását regisztráltuk (3. ábra). Egy hét múlva végzett vizsgálatok alkalmával megállapítható volt, hogy az első chloroquin kezelés hatása ekkora már nem terjedt ki, azonban a hisztaminnal együtt adva annak „átállító” hatását gátolja. Ez a gátló hatás olyan mértékű, hogy az ismételt hisztamin kezelés sem tudja a kontroll szint fölé emelni a *Tetrahymena* fagocita képességét.

A kétféle index esetében tehát eltérő eredményt kaptunk, a sejtosztódás esetében a chloroquin a hormon előkezelés hatását nem volt képes meggátolni, ugyanakkor a fagocitózis esetében igen. A chloroquin, amellett, hogy a membrán reciklizációt gátolja (ez minden vizsgált hormon esetében figyelembe vehető) az endocitózisban döntő szerepet játszó lizoszómákra erőteljesen [1, 9, 12] hat, ezért itt hatása elvileg is specifikusabbnak tűnik, a két index eltérése ezzel magyarázható. A sejtműködésnek a hormonnal való első találkozása alkalmával történő átállítását a chloroquin az esetek túlnyomó többségében meggátolta, akkor is, ha magát az imprintinget gátolni nem tudta.

Összefoglalás

A *Tetrahymena* reagál a magasabb rendűekben honos hormonokra, az ezekkel való első találkozása alkalmával a sejt működése részben tartósan és az utódgenerációban megmutatkozóan átállítódik, részben létrejön a hormonális imprinting, melynek eredményeként a hormonnal való újabb találkozás alkalmával a sejt válasza fokozódik. A membrán reciklizációt gátló chloroquin erősen befolyásolta az átállítódást és kevésbé a hormonális imprintinget. A hisztaminnal stimulált fagocitózis esetében a gátlás kifejezettebb, mint a szerotonin és dijódtirozin által stimulált sejtosztódás esetében, ami a chloroquin specifikus endocitózist gátló hatásával is magyarázható.

IRODALOM

1. BERHANU, P., OLEFSKY, J. M., TSAI, P., THAMM, P., SANDERS, D. and BRANDENBURG, D. (1982) *Proc. Natl. Acad. Sci.* **79**, 4069—4073.
2. CSABA, G. (1981) *Ontogeny and phylogeny of hormone receptors*. Karger, Basel—New York.
3. CSABA, G. (1980) Phylogeny and ontogeny of hormone receptors: the selection theory of receptor formation and hormonal imprinting. *Biol. Rev. (Cambridge)*, **55**, 47—63.
4. CSABA, G. (1984) The present state in the phylogeny and ontogeny of hormone receptors. *Horm. Metab. Res.* (In press.)
5. CSABA, G. and LANTOS, T. (1973) Effect of hormones on protozoa. Studies on the phagocytotic effect of histamine, 5-hydroxy-tryptamine and indoleacetic acid in *Tetrahymena pyriformis*. *Cytobiologie*, **7**, 361—365.
6. CSABA, G. and NÉMETH, G. (1980) Effect of hormones and their precursors on protozoa — the selective responsiveness of *Tetrahymena*. *Comp. Biochem. Physiol.*, **65B**, 387—391.
7. CSABA, G., NÉMETH, G. and VARGHA, P. (1982) Development and persistence of receptor “memory” in a unicellular model system. *Exp. Cell. Biol.*, **50**, 292—294.
8. CSABA, G., NÉMETH, G. and VARGHA, P. (1982) Influence of hormone concentration and time factor on development of receptor memory in a unicellular (*Tetrahymena*) model system. *Comp. Biochem. Physiol.*, **73B** 357—366.
9. IWAMOTO, Y., MADDUX, B. and GOLDFINE, I. P. (1981). Chloroquin stimulation of insulins binding to IM-9 lymphocytes: evidence for action at a nonlysosomal site. *Biochem. Biophys. Res. Com.*, **103**, 863—871.

10. KOCH, A. S., FEHÉR, J. and LUKOVICS, I. (1979) Single model of dynamic receptor pattern generation. *Biol. Cybernet.* **32**, 125—130.
11. LE ROITH, D., SHILOACH, J., BERELOWITZ, M., FROHMANN, A. L., LIOTTA, L. S. KRIEGER and D. T., ROTH, J. (1983) Are messenger molecules in microbes the ancestors of the vertebrate hormones and tissue factors? *Fed. Proc.*, **42**, 2602—2607.
12. SMITH, R. N. and JARETT, L. (1982). Ultrastructural basis for chloroquine induced increase in intracellular insulin in adipocytes: alteration of lysosomal function. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **79**, 7303—7306.
13. STEINMAN, R. M., MELMANN, I. S., MULLER, W. A. and COHN, Z. A. (1983) Endocytosis and the recycling of plasma membrane. *J. Cell. Biol.*, **96**, 1—27.

EFFECT OF CHLOROQUINE TREATMENT ON THE SWITCH-OVER AND IMPRINTING OF HORMONE TREATED TETRAHYMENA

Darvas, Zsuzsa, Csaba, G. and László Valéria

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

The unicellular *Tetrahymena* responds to the hormones of vertebrates. In the case of the first encounter the (indexed) function of cell is switched over and develops the hormonal imprinting, which causes the amplified response of the cell provoked later with the same hormone. These two phenomena permanently persist and are observable in the progeny generations, too. Chloroquine, inhibiting the recyclization of the membrane (contains receptors) heavily influenced the switch-over and lesser the hormonal imprinting. The inhibitor is more expressed in the case of histamine-stimulated phagocytosis, than the serotonin and diiodotyrosine stimulated growth. This may be explained by the specific endocytosis inhibiting effect of chloroquine.

A kiadásért felelős az Akadémiai Kiadó és Nyomda főigazgatója.

Műszaki szerkesztő: Sándor István

A kézirat nyomdába érkezett: 1984. VIII. 10. — Terjedelem: 6,65 (A/5) ív

85.13597 Akadémiai Kiadó és Nyomda, Budapest. — Felelős vezető: Hazai György

MAGYAR
TUDOMÁNYOS AKADÉMIA
KÖNYVTÁRA

TARTALOMJEGYZÉK

MOLNÁR ISTVÁN: Az integrált egyedfejlődési transzformációról	3
ONGRÁDI JÓZSEF: Vírusmutánsok jellemzése és felhasználásuk a vírusok biológiájának kutatásában	13
MINÁROVITS JÁNOS: Az antitest-diverzitás kialakulásának molekuláris biológiai alapjai	37
SZEBENI JÁNOS: Mesterséges vérpótlók	53
DARVAS ZSUZSA, CSABA GYÖRGY és LÁSZLÓ VALÉRIA: Chloroquin kezelés hatása a hormonkezelt sejtek funkcióváltására és a hormonális imprintingre Tetrahymenákban ...	71

Terjeszti a Magyar Posta

Előfizethető bármely hírlapkézbesítő postahivatalnál, a Posta hírlapüzleteiben és a Hírlapelőfizetési és Lapellátási Irodánál (HELIR) Budapest V., József nádor tér 1., 1900, közvetlenül vagy postautalványon, valamint átutalással a HELIR 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).

Előfizetési díj egy évre: 66 Ft

1 szám ára 33 Ft

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

Ára: 33 Ft
Előfizetés egy évre: 66 Ft

ISSN: 0133-3844

INDEX

BIOLÓGIA (Budapest)
33/1 (1985)

MOLNÁR, I.: On the Integrated Developmental Transformation	3
ONGRÁDI, J.: Characterization of Virus Mutants and Their Use in the Study on Biology of Viruses	13
MINÁROVITS, J.: Molecular Biological Basis of the Generation of "Antibody-Diversity"	37
SZEBENI, J.: Artificial Blood Substitutes	53
DARVAS, S., CSABA, G. and LÁSZLÓ, V.: Effect of chloroquine Treatment on the Switch-over and Imprinting of Hormone Treated Tetrahymena	71

304.441

38
1985

biológia

9

33, 1985/2

AKADÉMIAI KIADÓ, BUDAPEST

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 *könyvismeretéseket 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 „*fejezetangorsort*” 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 *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) folyóiratcikk 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: 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 összefoglalóik, ill. címük alapján ismertetik. Ezért célszerű az *angol összefoglalás* informatív, szabatos megfogalmazása.

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 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 kéziratától 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* bocsátunk rendelkezésükre.

EMBRIÓÁTÜLTETÉS KÍSÉRLETI ÁLLATOKON ÉS EMBEREN

SÁNDOR ISTVÁN

Közegészségügyi Központ Fejlődéstani Laboratóriuma,
 Temesvár -- Románia

I. BEVEZETÉS

"Ebben az előzetes közleményben csupán egy kísérletet kívánok bemutatni, amely bizonyítja annak lehetőségét, hogy egy bizonyos házinyúl fajta méhét felhasználjuk egy másik házinyúl fajta megtermékenyített petesejtjéből kiinduló teljes magzati növekedés és fejlődés biztosítására... 1890. április 27-én két embriót nyertünk egy 32 órával előbb hím angórányúl által megtermékenyített angórányúl nőténnytől... Az embriókat azonnal átültettük egy belga hím által 3 órával előbb megtermékenyített belga nőtény nyúl petevezetékek felső végébe... A kísérletet azért végeztük, hogy elsősorban megállapítsuk, milyen hatással van (ha egyáltalán van ilyen hatás) egy "mostoha" anyaállat "idegen" leszármazottaira és hogy befolyásolják-e a méhben fejlődő idegen embriók az anyaállat saját, ugyanakkor született leszármazottait..."

Hosszabban idéztünk, mivel a fenti szöveg szerzője, a cambridge-i W. Heape (1891 [63]) ezzel a kísérlettel nemcsak igen nagy horderejű vizsgálatok távlatait nyitotta meg (lényegileg az első, beágyazódás előtti fiatal embriókon végzett kísérletes vizsgálatokról volt szó), hanem mindjárt fel is vázolt két ezzel kapcsolatos fontos kérdést. Lássuk az eredményt. A petevezetékekbe átültetett két, 4 blasztomérás stádiumban levő embrió a receptor anyaállat saját kicsinyeivel együtt fejlődött és született meg, s ezáltal mindkét feltett kérdésre választ adott. Bebizonyosodott az idegen méh környezetében való teljes fejlődés lehetősége és -- legalább a vizsgált tulajdonságok szintjén -- a "mostoha" környezet befolyásának hiánya (az idegen újszülötteket bizonyos öröklődő, genetikailag meghatározott tulajdonságok, így a szőrzet minősége, színe alapján különböztette meg a saját kicsinyektől).

Századunk negyedik évtizedének kezdetéig ez maradt -- néhány elszigetelt kísérlettől eltekintve (Gusden, 1896; Heape, 1897; Biedl és mtsai,

1922 [3]) — az egyedüli embrióátültetés. Az ilyen irányú kutatások rendszeres, egyre nagyobb mérvű újrafelvétele 1934-ben indult meg, mégpedig in vitro megtermékenyített nyúlpetesejtek átültetésével (Pincus és Enzmann, 1934 [3]). Azóta mindmáig a vizsgálatok, az eredmények és a problémák is szakadatlanul sokasodtak. 1961-ben Austin, egy összefoglaló táblázatban, 99 munkát sorol fel. Tíz évre rá, 1971-ben, Adam és Abbott [4] 451 címet gyűjtött össze, 14 állatfajon végzett kísérletekre vonatkozólag. Dziuk (1975) már 600 címet idéz és az egéren, patkányon, házinyúlön, hörcsögön, disznón, juhon és tehénen végzett embrióátültetést még 1965-től rutin módszernek tekinti.

A következőkben mind az átültetés főbb gyakorlati, metodológiai összetevőit, mind annak fontosabb elméleti problémáit elemezzük.

II. ÁLLATFAJOK. HOMEO- ÉS HETEROSPECIFIKUS ÁTÜLTETÉS

Amint láttuk, az első átültetéseket házinyúlön végezték (minden bizonytalansággal a belső nemi szervek és a fiatal embriók méreteiből adódó előnyöknek tulajdoníthatóan). Később az eljárás főleg laboratóriumi rágcsálókön (egéren, patkányon, hörcsögön) és néhány háziállaton (tehénen, disznón, juhon) fejlődött tovább.¹

Az egyes állatfajokon belüli (homeospecifikus) átültetést azonos fajtájú vagy törzsű ("inbred" vagy "outbred"), vagy különböző fajtájú, illetve törzsű állatok között valósították meg. A homeospecifikus átültetésen kívül fajok közötti (hetero- vagy interspecifikus) átültetéseket is végeztek, különböző kombinációkban, mint:

- egér \rightleftarrows házinyúl [19];
- egér \rightleftarrows patkány [19];
- egér \rightleftarrows tengerimalac [19];
- juh \rightleftarrows kecske (Warwick és mtsai, 1934 [3]);
- juh \longrightarrow házinyúl (Averill és mtsai, 1955 [3]);
- menyét \longrightarrow házinyúl [21];
- menyét \rightleftarrows nerc [22];
- patkány \rightleftarrows hörcsög (Blaha és DeFeo, 1964 [23]).

¹Az első kísérletek: egéren (Bittner és Little, 1937, [79]), patkányon (Nicholas, 1933, [3]), juhon (Warwick és mtsai, 1934, [3]), tehénen (Dowling, 1949, [3]), disznón (Kvasznickij, 1951, [3]), hörcsögön (Blaha, 1964, [12]).

III. AZ ÁTÜLTETÉS TECHNIKÁJA

Az átültetés tulajdonképpeni módszere több szakaszból és összetevőből áll, a választott metodológiai változattól függően [23, 26, 30]. Az alábbiakban a kísérleti munkában leggyakrabban használt egér, ill. patkány esetében alkalmazott technikát ismertetjük.

1. Átültetésre alkalmas embriók nyerése

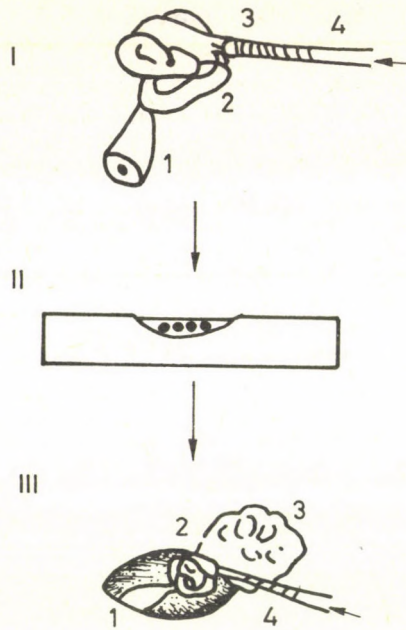
A kísérlet tervétől, illetve az átültetésre szánt fejlődési stádiumtól függően az eljárás a következő lehet (lásd az I. táblázatot is).

I. táblázat

Beágyazódás előtti embriók topográfiája ([30] nyomán)

Fejlődési stádium	Lokalizáció	Optimális kimosási időpont (a párosodás éjszakájának 0 órájától, órákban)	
		egér	patkány
1 blasztoméra	petevezeték	12	12
2 blasztoméra	petevezeték	36	36
8 blasztoméra	petevezeték	60	84
morula	méh	72–84	96–108
blasztociszta	méh	84–96	108–120
beágyazódás		96–120	120–132

a) Ovocita vagy érett petesejt a petefészek harmadlagos tüszőinek punkciója, illetve megnyitása révén vagy (a második esetben) közvetlenül az ovuláció után a petevezeték átmosásával nyerhető. Az átmosás a petevezeték petefészki vége felől, injekciós fecskendő vagy (inkább) megfelelően méretezett Pasteur-pipetta segítségével történik, az átültetésnél használt valamelyik oldattal (lásd lentebb). Rendszerint a megölt állatból azonnal eltávolított petefészek – petevezeték – méhcsont komplexuson végezzük binokuláris lupe alatt, természetesen steril körülmények között (1. ábra, I, II). A mosó folyadékot, a benne levő gamétákkal lehetőleg homorú üvegedényben (óraüveg, nagyobb vájt tárgylemez stb.) fogjuk fel, így a sejtek annak közepén gyűlnek össze és könnyen fellelhetők.



1. ábra. I. A petevezeték átmosása

1. méhcsont, 2. petevezeték, 3. a petevezeték petefészki vége, 4. pipetta.

II. Vájt tárgylemez az embriókat tartalmazó mosófolyadékkal.

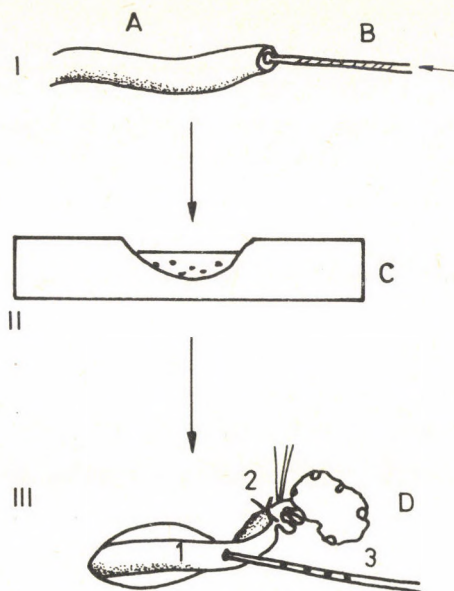
III. A kimosott embriók átültetése a petevezetékbe.

1. méh, 2. petevezeték, 3. petefészek, 4. pipetta az átültetendő embriókkal

b) A barázdálódás különböző szakaszában levő korai embriók, a kialakult moruláig (tehát 2 sejtes stádiumtól kb. 32 sejtes stádiumig) lényegileg ugyanazon eljárással nyerhetők. A biztonság kedvéért, mivel olykor az embriók áthaladása a petevezetékbe a méhbe spontán vagy valamely külső tényező hatására korábban következik be, a petevezeték átmosását a méh átmosásával egészíthetjük ki (lásd a következőkben).

c) Ha különböző fejlődési stádiumban levő blasztocisztákra van szükségünk, tehát a beágyazódás előtti utolsó fejlődési szakaszban levő embriókra, akkor a méhet kell átmosnunk. A megölt állatban, megfelelő időpontban, lekötjük a méhszarvak² két végét, majd külön eltávolítjuk a két szarvat és mosófolyadékot tartalmazó nagyobb vájt tárgylemezbe vagy óraüvegbe helyezük. A lekötés eltávolítása után, lehetőleg üvegpipettával (vagy injekciós

²A laboratóriumi rágcsálók, a házinyúl stb. méhe tudvalevőleg kétszarvú (2a ábra).



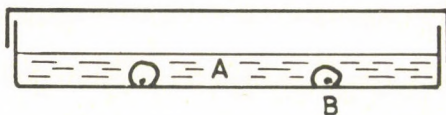
2. ábra. I. A méhszarv átmosása. A. méhszarv, B. pipetta.
 II. Vájt tárgylemez az embriókat tartalmazó mosófolyadékkal (C).
 III. A kimosott embriók átültetése méhbe. 1. méh, 2. lekötött petevezeték—
 méh átmenet, 3. pipetta az átültetendő embriókkal

fecskendővel), nyomás alatt átáramoltatjuk a mosófolyadékot mindkét szarvon — egyszer vagy esetleg többször —, majd rövid várakozás után (ülepedés!) megkeressük a kimosott blasztocisztákat (2. ábra, I, II).

d) Az átültetés számára szükségelt embriókat nyerhetjük minden különösebb beavatkozás nélküli, normálisan terhes állatoktól. Ha nagyobb számú átültetendő embrióra van szükségünk (és kb. azonos fejlettségűekre), akkor — különösen egereken — alkalmazhatjuk az ún. szuperovuláció módszerét (lásd [45]). Lényege a következő: nemileg éretlen nőténynek megfelelő, optimálisan 42–52 órással egymás után adagolunk először terhes kanca szérum gonadotropint, majd emberi chorion gonadotropint. Az első serkenti az ovociták és tüszők érését, a második kiváltja a tüszőrepedést. Ezzel az eljárással olykor 50–80 szimultán tüszőrepedés is elérhető.

Bizonyos esetekben, a morula vagy blasztociszta átültetéséhez szükséges "anyagot" nem a megfelelő stádiumban, hanem előbb, igen korai stádiumban (pl. 2–4 blasztromérás stádiumban) nyerjük, vagy még előbb ovocita vagy érett petesejtként. Ilyenkor, a tulajdonképpeni átültetés előtt közbeiktatódik egy in vitro tenyésztési szakasz.

Ezzel kapcsolatban el kell mondanunk, hogy a beágyazódás előtti laboratóriumi emlős embriók in vitro tenyésztése, bizonyos állatok, így elsősorban az egér esetében ma már rutinszerűnek tekinthető. Ez persze — mint sok más "rutin" eljárás esetében — nem jelenti azt, hogy a ma már könnyűnek, egyszerűnek tűnő módszer nem hosszú évek kutató, előkészítő munkájának eredménye [8, 14, 15, 16, 17, 30, 70, 72, 83, 91, 92]. A kialakult módszer szerint a tenyésztés különböző, standardizált, folyékony táptalajokban (Whitten, Brinster, Donahue stb. receptje szerint) történik, leggyakrabban paraffin vagy vazelinolaj alá juttatott tápfolyadék cseppekben, az olaj feletti gázfázisban 3–5% CO₂ tartalommal (3. ábra). A tenyésztés a zigótától (megtermékenyített petesejtől) kezdve bármely korai fejlődési fázissal kezdődhet. Eleinte csupán a teljesen kialakult blasztociszta stádiumig lehetett tenyészteni, az utóbbi másfél évtized munkája azonban meghozta annak a lehetőségét is, hogy a tápfolyadék összetételének ismételt változtatásával túljussunk ezen a stádiumon, tehát hogy in vitro, a beágyazódás utáni stádiumoknak megfelelő embrió alakuljon ki [49, 50, 51, 52, 68]. Egy másik lehetőség, amely sok esetben fontos lehet a kísérletező számára, a tenyésztés még korábbi, érett petesejt stádiumban való elindítása, majd a "kiültetett petesejt" mesterséges, in vitro megtermékenyítése megfelelően előkészített (kapacitált) spermiumokkal.



3. ábra. Beágyazódás előtti embriók tenyésztése. A. Paraffinolaj. B. Az olaj alá juttatott tápfolyadék-csepp a benne levő kiültetett embrióval

Ha a tenyésztés az átültetés közbeiktatott szakasza, úgy a "mostoha" anyja petevezetékébe, illetve méhébe való átvitel a kísérleti terv szerinti fejlődési fázisban történik. Ez nemcsak a pontos időzítést teszi lehetővé, de alkalom nyílik arra is, hogy a tenyésztés, illetve a mesterséges környezet, sőt esetleges, a tápfolyadékba juttatott hatóanyagok vagy a tenyésztés alatt alkalmazott külső behatások (sugárzás stb.) az átültetett embrió további sorsára való hatását ellenőrizhessük.

2. Az átültetés változatai

a) "Klasszikus, sebészi módszer. A belső nemi szervek feltárása oldalsó ágyéktáji bemetszéssel történik. Amennyiben az átültetendő embriók nem lépték túl a fiatal morula (8–16 blasztoméra) stádiumát, úgy az átültetés helye a petevezeték. A bursa ovarii felvágása után feltárjuk (binokuláris lupe alatt) a petevezeték petefészki végét és finom üvegpipetta segítségével, kevés tápfolyadékban beléfecskendezzük a frissen nyert vagy tenyésztett embriókat (1. ábra, III). Ha a kísérlet megkívánja, befecskendezhetjük az embriókat a petevezeték valamely meghatározott szakaszába is, természetesen a petevezeték falon áthatolva. Egyes szerzők [77, 79, 86] megkísérelték az egészen korai stádiumokat a bursa ovarii-be juttatni, hogy azok innen jussanak a petevezetékbe.

Ha fejlett morula (32 blasztoméra) vagy blasztociszta stádiumban levő embriók átültetéséről van szó, úgy a méhszarv disztális szakaszát hozzuk a látótérbe és az embriókat a méhfal punkciója révén juttatjuk rendeltetési helyükre, a méhüregbe. A méhszarv rögzítésére a petefészkek körüli zsírszövetet ajánlatos csipesszel meghúzni, mivel magának a méhnek vongálása károsan befolyásolhatja az átültetés kimenetelét (2. ábra, III). Hasonló megfontolásból lehetőleg elkerülendő a punkció előkészítésére a korábban használt injekciós tűvel végzett "előpunkció" [66]. Saját tapasztalataink szerint is ([24] és nem közölt kísérletek) az injekciós tű által okozott trauma elkerülése és ellenálló üvegből (pl. pyrex) készített pipetta használata, megjavítja az átültetés eredményeit.

b) Transzvaginális, nem sebészi módszer: A módszert Beatty (1951) kezdeményezte, Tarkowski (1959) és Vickery (1969, [62]) alkalmazta, majd Marsk és Larsson (1974) dolgozta ki részletesen. Lényege: a tápfolyadékban levő embriókat egy mikrofecskendőhöz kapcsolt mikropipettaba szívjuk (két légbuborék között, ami jelzi az embriók elhelyezkedését), majd a hüvelyen keresztül a két méhszarv közös méhnyakába fecskendezzük. A módszernek van néhány "buktató"-ja (lásd erre vonatkozólag [30], mint például: egyes embriók elvesztése a befecskendezett folyadék visszaáramlása révén; az átültetett embriók elhelyezkedését (melyik szarvban?) csak az állat megölésekor lehet megállapítani.

3. A donor és receptor állat terhességi stádiuma

Az átültetés metodológiájának egyik alapvető kérdése a donor és receptor terhességi stádiumának optimális viszonya. Egéren, több szerző véleménye szerint [27, 30, 63, 66] a legjobb eredmények az aszinkron átültetéstől várhatók, ha a donornak 24 órás terhességi előnye van a receptorral szemben (pl. donor: 31/2 nap, receptor 21/2 nap). Egyesek (pl. [30]) a 3-ik terhességi napon végzett szinkron átültetést is megfelelőnek tartják. Saját kísérleteinkben ([24]) a legállandóbb eredményeket a fent említett aszinkron átültetéssel értük el.

Úgy tűnik, hogy a patkányok esetében [25, 77, 78] mind a szinkron (donor 31/2 napos — receptor 31/2 napos), mind az aszinkron (donor 41/2 napos — receptor 31/2 napos) átültetés kielégítő eredményhez vezet.

4. A receptor és előkészítése

Az első embrióátültetéseket (beleértve Heape "princeps" kísérletét) normálisan terhes receptorok segítségével végezték, az átültetett idegen embriók tehát együtt fejlődtek a "mostohaanya" saját embrióival. Megkülönböztetésük céljából kezdettől fogva genetikai "jelzőket" alkalmaztak, elsősorban a festenyezettséget, amely (például a szemben) már a magzati³ stádiumokban megjelenik és így ellenőrizhető. Természetesen felhasználható genetikai "jelzés" gyanánt sok más jellegzetesség, elsősorban bizonyos enzimek izomér formái (izoenzimek) stb.

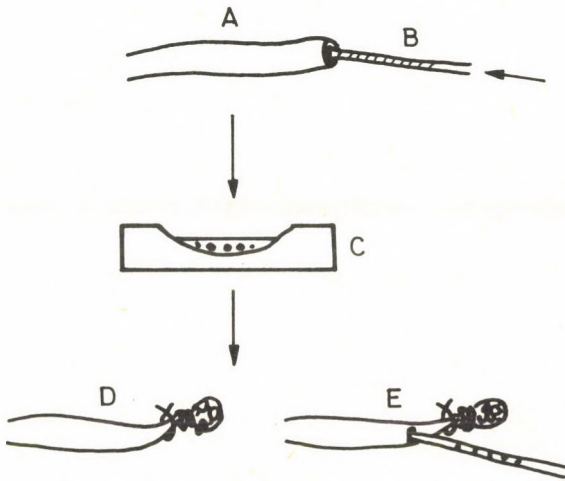
Az utóbbi évtizedek metodológiai fejlődése ezen a téren is előrelépést jelentett, illetve változatosabb kísérleti lehetőségeket biztosított. Ilyen többek között álterhes⁴ állatok alkalmazása receptorként. Ezzel a módszerrel az átültetett embriók fogékony, de saját embriókat nem tartalmazó méhbe ke-

³A laboratóriumi rágcsálók esetében, a főbb szervekdemények kialakulásáig, tehát kb. a 12—13. terhességi napig embrionális periódusról, ezután pedig magzati (fetális) periódusról szólnunk.

⁴Ha az ún. ösztroz ciklus receptív szakaszában levő nőstény állatot (patkányt, egeret) vazektomizált hímmel párosítunk (tehát olyan állattal, amelynek ductus deferens-ét lekötöttük), akkor, ahogy azt először [60] megfigyelte, bekövetkeznek a terhességre jellemző méh- és hüvelynyálkahártya elváltozások anélkül, hogy a méhben embriók lennének jelen. Hasonló álterheségi állapot hozható létre a méhnyak mechanikus, árammal stb. történő ingerlésével is [60]. A méh valamennyi esetben fogékonyává válik, előkészült a beágyazódásra.

rülnek, s így nincs szükség megkülönböztető jelzésre. Viszont hiányzik a túloldali méhszarv tartalmával való összehasonlítás lehetősége.

Éppen ezen hátrány kiküszöbölésére (és más megfontolások alapján) dolgoztunk ki laboratóriumunkban egy új átültetési eljárást [24]. A módszer a következő: a kiválasztott receptorokat normálisan párosítjuk, majd 21/2 terhességi nap után (egérnél), illetve 31/2 terhességi nap után (patkány-nál) "klasszikus" sebészi úton végezzük el bármilyen fajú embriók átültetését. Az egyetlen változtatás az, hogy közvetlenül az átültetés előtt (ugyanazon műtét alatt) lekötjük a petevezeték és méh közötti átmenetet (lásd 4. ábra). Ezáltal egyoldalú üres méhszarvat kapunk (ebbe ültetjük át az idegen embriókat), míg a túloldali méhszarv tartalma kontroll csoportként szolgálhat.⁵



4. ábra. Üres, terhes méhbe való átültetés.

A. méh, B. pipetta a mosófolyadékkal, C. vájt tárgylemez a kimosott embriókkal, D. a petevezeték—méh átmenet lekötése, E. az embriók átültetése lekötés után

5. Az átültetett embriók száma

Egyes állatfajoknál, amelyeknél rendes körülmények között több embrió fejlődik (fiziológiás poliembriónia), kis számú embrió jelenléte a méhben

⁵A módszer kidolgozásakor nem tudtuk, hogy francia szerzők a lekötést más célra, már előttünk alkalmazták [20, 80].

Donor	Receptor	Donor stádium terh. nap	Receptor, terh. nap, átültetés helye	Átültetés módja
DBA	DBA (álterh.)	2 nap	méh	sebészi
C ₅₇ B1	C ₅₇ B1	2 nap	méh	sebészi
DBA	C ₅₇ B1	2 nap	méh	sebészi
C ₅₇ B1	DBA	2 nap	méh	sebészi
--	--	Ovociták	petefészek burka	sebészi
--	--	?	?	sebészi
--	--	Ovociták	petefészek burka	sebészi
Q törzs	Q törzs (álterh.)	blasztociszták 3 1/2 nap	2 1/2 nap méh	sebészi
albínó (szuper- ovulá- ció)	C ₃ H x C ₅₇ B1 (F ₁)	3 1/2 nap	2 1/2 nap méh	sebészi
Brown, black, "grey" "beige" albínó	albínó, "grey" "beige" (álterh.)	2-8 blasztoméra	petevezeték	sebészi
		blasztociszták	méh	transzvag.
?	?	blasztociszták 3 1/2 nap	3 1/2 nap méh	sebészi
Q törzs	Q törzs (álterh.)	blasztociszták 3 1/2 nap	3 1/2 nap méh	sebészi
Swiss (szuper- ovuláció)	Swiss (álterh.)	blasztociszták 5 nap	petefészek eltávolítás progeszteron, ösztrogén	sebészi
A/Jax	CBA	blasztociszták	méh	transzvag.
CBA	A/Jax	blasztociszták	méh	transzvag.

táblázat

Átültetett embriók száma	"Mégfogant" embriók száma	%	% terh. végén v. születés után	Szerzők
--	--	26	--	[34]
--	--	33	--	[34]
--	--	44,66	--	[34]
--	--	34	--	[34]
--	--	20	--	Runner (1951, [85])
224	81	--	36	[44]
--	--	14	--	Runner és Palm (1953, [85])
925	375	40,5	?	Gates (1956, [67])
--	--	7--36	--	[64]
50	35	70	70	[85]
--	--	24,6	8,4	[85]
--	--	45	?	[25]
98	39	39,8	?	[66]
133	50	37	?	[90]
521	262	50	--	[62]
241	75	31	--	[62]

negatív irányban befolyásolhatja a terhességet. Így disznónál (Polge és mtsai, 1966, [67]) a terhesség megtartásához minimálisan 4–5 embrió szükséges. Ha a méh üres, úgy ennek sárgatest-gátló hatása van. Hafez (1968, [67]) szerint a házinyúlánál kis számú (pl. 1–2) embrió kialakulása megnöveli a beágyazódáskor fellépő halálozást. Ezen megfigyelésekből kiindulva [64, 67] egészen ellenőrizték az átültetett embriók számának befolyását az átültetés eredményességére, de — legalább az általuk megfigyelt 2–12 átültetett embrió keretén belül — nem tudtak említésre méltó hatást megállapítani (különben az említett luteolitikus hatást sem sikerült — egégnél — kimutatni).

6. Az átültetésnél használt tápfolyadék

Az évek során különböző biológiai folyadékokat, fiziológiás oldatokat (vagy ezek kombinációit) használtak fel az embriók átültetése kapcsán, illetve azok "tárolására" a donor állatból való eltávolítás és az átültetés közötti rövid időtartam alatt. Egégnél: Locke-oldat (Fekete és Little, 1942, [3]), Parnett — Compton-oldat [5], Tyrode-oldat [13], egérszérum + 0,9% NaCl [85], borjú szérum 10% foszfátpufferrel [66], Eagle-tápfolyadék [77], lószérum + fiziológiás konyhasóoldat $\bar{a}\bar{a}$ [84] stb. Patkánynál: Ringer-oldat (Nicholas és Hall, 1942, [3]), Eagle-tápfolyadék + 5% lószérum (Noyes és Dickmann, 1960, [3]), patkány vérplazma (Duncan és Forbes, 1965, [23]), foszfát pufferes Ringer-oldat (Mantalenakis és Ketchel, 1966, [23]), fiziológiás konyhasóoldat + patkány vérplazma (2:1) (Dickmann és DeFeo, 1967, [23, 26]).

Az általunk egészen végzett átültetéseket [24] különböző folyadékokkal valószínűsítettük meg: Hanks-oldat, Parnett — Compton-oldat, borjúszérum 10% foszfát pufferrel. A legjobb eredményt a pufferes borjúszérummal értük el (pH 7,4).

IV. AZ ÁTÜLTETÉS EREDMÉNYESSÉGE

1. Százalékos adatok. Az átültetés eredményessége a "megfogzás" százalékaránya, valamint a terhesség végéig jutott magzatok, illetve a megszületett egyedek száma alapján ítéltethető meg. A II. táblázat többek között összefoglal néhány az egégnél erre vonatkozó adatot.

A táblázat adatai szerint az optimális fogamzási százalékarány egégnél általában 50% körül mozog (az esetek nagy részében ez alatt). Meg kell je-

gyeznünk, hogy a különböző szerzők által közölt százalékarány megítélését bizonyos biostatistikai megfontolások nehezítik, mindenekelött az igen változó mértékű konfidencia vonatkozásában (az átültetések számának különbözősége miatt). Így például, a [66] által közölt különösen magas fogamzási százalék, 57,3%, 68 blasztociszta méhbe való átültetésén alapult, ami nyilvánvalóan csak hozzávetőleges megítélésre alkalmas. Patkánynál [25, 77] és mások adatai szerint a "fogamzási" és fejlődési százalékarány általában magasabb: 65—70%. Még nem közölt saját előzetes adataink megfelelnek ennek a megállapításnak.

V. AZ EREDMÉNYESSÉGET BEFOLYÁSOLÓ TÉNYEZŐK

Elméletileg, az átültetés eredményességét számos tényező befolyásolhatja [64, 66]:

- a) a technikai tökéletesítés foka (objektív és szubjektív tényezők);
- b) az átültetésnél használt tápfolyadék;
- c) a receptor élettani sajátosságai (terhes, álderhes, üres méh);
- d) a receptor, ill. donor kora;
- e) az átültetett embriók eredete (spontán tüszőrepedés, szuperovuláció, direkt átültetés, közbeiktatott in vitro tenyésztés és megtermékenyítés stb.);
- f) az átültetésnél használt donor—receptor kombináció;
- g) az átültetett embriók száma;
- h) az alkalmazott módszerváltozat (sebészi, nem sebészi);
- i) szinkron vagy aszinkron átültetés;
- j) az átültetésre használt fejlődési stádium és viszonyítás az átültetés helyéhez (borsa ovarii, petevezeték, méh).

A felsorolt tényezők többségét kísérletesen ellenőrizték:

ad.a. McLaren (1969) a saját előző kísérleteihez képest megnövekedett "fogamzási" arányszám okait keresve néhány tényező fontosságát hangsúlyozza: a kísérletező növekvő gyakorlata, ellenálló pipetták használata és az "előpunkció" kiküszöbölése; a fölösleges traumák elkerülése (a méhszarvat a petefészek körüli zsírszövetnél fogva húzzuk stb.). Saját tapasztalatunk aláhúzza a fenti megállapítások helyességét.

ad.b. Gates és Runner (1952) ellenőrizték két tápfolyadék használatának hatását a "fogamzás" számarányára (Locke-oldat és "szarvasmarha ondó oldószere"), és megállapították, hogy a második oldat esetében, aránylag kevés embrió átültetésével, a "fogamzás" százalékos értéke nagyobb.

McLaren és Mickie (1956), összehasonlítva régebbi átültetések eredményességét — 10%, illetve 26% "fogamzás" — a közölt kísérletekben elért lényegesen nagyobb százalékaránnyal — 40%, illetve 57% — a változás egyik lényeges tényezőjének az előzőleg használt Pannett — Compton-oldat 10%-os foszfát pufferes borjúszerűmmal való felcserélését tekintik.

Saját kísérleteinkben [24], üres, terhes méhbe való átültetés, albínó donor és receptor egerek között, Pannett — Compton-oldattal 3,2%, foszfát pufferes borjúszerűmmal 16,4% "fogamzást" eredményezett. Ha az átültetést CBA_{T6T6} és C₅₇B1₆ egerek között végeztük, a Pannett — Compton-oldat 11,6%, a Hanks-oldat 9%, a pufferes borjúszerűm 30,7% fogamzást adott.

ad.c. Boot és Mühlbock (1962) összehasonlító átültetéseket végeztek különböző egértörzsek között, receptorként terhes, illetve áalterhes állatokat használva és a következőket állapították meg a fogamzási százalékot illetően:

- A törzs —→ C₅₇B1 törzs: 48% (terhes receptor), illetve
93% (áalterhes receptor);
- DBA törzs —→ C₅₇B1 törzs: 53% (terhes receptor), illetve
36% (áalterhes receptor);
- C₃H törzs —→ C₅₇B1 törzs: 67% (terhes receptor), illetve
76% (áalterhes receptor).

A fentiek alapján a szerzők az áalterhes receptorba való átültetést előnyösebbnek tartják. Megjegyzendő, hogy az idézett adatok nem indokolják teljes egyértelműséggel a levont következtetést, és hogy az esetek arányilag csekély száma csökkenti az adatok statisztikai érvényességét.

Egy nagyobb munka keretében [63] megvizsgálták a terhes illetve áalterhes receptor befolyását az átültetés kimenetelére, és nem találtak semmilyen értékelhető összefüggést.

Amint már jeleztük, az általunk kezdeményezett módszer, az üres, terhes méhbe való átültetés a más szerzők által közölt összehasonlítható eredményeket adott. Úgy tűnik tehát, hogy — legalább az eddig rendelkezésre álló adatok alapján — nehéz egyik vagy másik változatot előnyben részesíteni (ami a "fogamzás" százalékarányát illeti).

ad.d. A receptor, ill. donor korát mint az átültetés sikerét befolyásoló esetleges tényezőt, több szerző vizsgálta. Talbert és Krohn (1966) egereken végzett szinkron átültetés kapcsán (a nyilvánvalóan rendellenes embriókat kizselektálva) megállapították, hogy a különböző használt kombiná-

ciók közül (öreg → fiatal, fiatal → fiatal, fiatal → öreg)⁶ csupán az utolsó mutatott alacsonyabb fogamzási százalékot. Ez nyilvánvalóan a receptor belső nemi szervek "öregedésének" hatására utal. Érdekes ezzel kapcsolatban [35] megfigyelése, amely szerint öreg egerek méhnyálkahártyája lényegesen gyengébb decíduális reakciót mutat.

Későbbi, házinyúlön végzett kísérletek (Adams, 1970, [12]; Maurer és Foote, 1971, [12]) arra utalnak, hogy ennél az állatfajnál mindkét "partner" hozzájárul az átültetés korral párhuzamosan csökkenő eredményességéhez. Hasonló megfigyeléseket közöl Blaha [12], aki — hörcsögön — lényeges különbségeket észlelt a fogamzás számarányában, illetve a terhesség végéig fejlődő magzatok számában, az általa használt fiatal → öreg és öreg → fiatal kombinációk között egyrészt, és a fiatal → fiatal kombináció között másrészt. Ez újból mindkét "résztvevő" szerepére utal.

Az ellentmondó eredmények részben minden bizonnyal a használt állatfajok közötti különbségeknek tulajdoníthatók. Világos, egyértelmű eredmények eléréséhez újabb vizsgálatokra lesz szükség.

ad.e. McLaren és Michie [63] adatai szerint az éretlen, szuperovulációnak alávetett nőténytől, illetve spontán tüszőrepedéses nőténytől származó embriók átültetésének adatai között, tehát az embriók életképességét illetően is, említésre méltó különbség nem volt tapasztalható.

ad.f. Az egérembriók átültetésével foglalkozó egyik első munkában [34] a szerző donor és receptor tekintetében különböző kombinációkat használt a DBA és a C₅₇Bl egértörzs között. Az eredmények szerint mind a C₅₇Bl embriók átültetése DBA vagy C₅₇Bl receptorba, mind a C₅₇Bl embriók átültetése DBA receptorba nagyjából azonos fogamzást biztosít (a C₅₇Bl törzsből való állatok valamivel jobb receptornak bizonyultak).

Az átültetésben részt vevő egértörzsek kombinációjának nyilvánvaló befolyására utaltak [62] transzvaginális átültetéssel végzett kísérletei. Az A/Iax törzs → CBA kombinációban az élő, fejlődő embriók százalékaránya 50% volt, míg a CBA → A/Iax kombinációban ez az arány 31%-ra csökkent.

Saját kísérleteinkben [24] az átültetés kimenetelének befolyásolását a Wh (albínó) törzs → CBA_{T6T6}, illetve CBA_{T6T6} → Wh keresztezett kombinációban figyelhettük meg. Az első esetben (különben azonos kísérleti körülmények között) a "fogamzás" 11,6%-ban volt megfigyelhető, míg a második esetben nem fogant meg egyetlen embrió sem. Ugyancsak nyilvánvaló különbséget

⁶Fiatal: 21/2—6 hónapos, öreg: 14—18 hónapos állatok.

észleltünk a Wh \longrightarrow Wh, illetve a RAP \longrightarrow RAP kombináció között (üres, terhes méhbe való átültetésnél): 16,4 %-os, illetve 40 %-os fogamzást.

Sajnos a fenti példákban jelzett lényeges különbségek konkrét mechanizmusáról egyelőre vajmi keveset tudunk, noha megértésük bizonyára lényegesen hozzájárulna nemcsak az átültetés, hanem általában a reprodukció, a beágyazódás stb. számos problémájának tisztázásához.

ad.g. McLaren laboratóriumában több vizsgálatot folytattak az átültetett embriók számának az átültetés kimenetelére való befolyását illetően. Az első két kísérletsorozat [63, 64], amelyet két különböző termékenyséű egértörzsön végeztek, az egy méhszarvba átültetett egyre nagyobb számú embrió hatását volt hivatva vizsgálni. A III. táblázat (amely a második munka 6. táblázatának egyes adatait tartalmazza) néhány lényeges, a két vizsgálat összehasonlítása alapján megállapított tényre hívja fel a figyelmet.

III. táblázat

Kontroll nőstényállatok jellemzői	1956-os eredmények	1959-es eredmények
beágyazódás/méhszarv	3,4	4,5
embrió halálozás	16 %	10 %
párosodás/terhesség arány	57 %	76 %
átültetett embriók száma	0—18	0—30
<u>Az átültetés hatása</u>		
"idegen" megfogant embriók száma	nő, párhuzamosan az átültetett embriók számával	idem
saját, azonos szarvban fejlődő embriók száma	csökken, párhuzamosan az átültetett embriók számával	idem
saját ellenoldali szarvban fejlődő embriók száma	csökken, ha sok az átültetett embrió	nincs hatás
halálozás az átültetésre használt szarvban	nő, ha a beágyazódások száma nagy	nincs hatás

Megállapítható, hogy milyen meglepően nagy a méh "befogadóképessége", ami lehetővé teszi nagyszámú embrió beágyazódását és fejlődését (az eredményt a terhesség 17-ik napján ellenőrizték!). Emellett kétségtelen különb-

ségek is megnyilvánultak, az átültetéssel szembeni magatartásnak a termé-
kenységtől (reproduktív kompetenciától) való függését jelezve.

Egy későbbi munkában [67] igen csekély számú embrió átültetésének hatá-
sát vizsgálták. Az eredményekre már előbb utaltunk (lásd ott), itt csak any-
nyit tennék hozzá, hogy két embrió átültetése esetén a születés körüli ha-
lálózási arányszám nagyobbá válik.

ad.h. Amint azt már említettük, a Marsk és Larsson [62] által
kidolgozott nem-sebészi, transzvaginális átültetés a klasszikus eljáráshoz
hasonló eredményeket ad. Ugyancsak az általános átlageredményekhez közel ál-
ló vagy azzal azonos "fogamzási" arányszám érhető el az általunk kezdeménye-
zett "üres, terhes méh" módszer alkalmazásával [24].

ad.i.-j. Különleges figyelemben részesült a donor és receptor terhességi
szakaszának viszonya az átültetés pillanatában. Az ezzel kapcsolatos leglé-
nyegesebb adatokat fentebb már említettük. Példaképpen említünk meg e helyen
két további kísérleti eredményt. Noyes és Dickmann [77] 1380 pat-
kányembriót ültetett át 170 receptorba, különböző kombinációkban és a követ-
kező eredményekre jutottak:

Átültetés a méhbe:

4 napos donor — 4 napos receptor: 70%-os fejlődés a terhesség végéig

5 napos donor — 4 napos receptor: 70%-os fejlődés a terhesség végéig

4 napos donor — 3 napos receptor: 25%-os fejlődés a terhesség végéig

5 napos donor — 5 napos receptor: 5%-os fejlődés a terhesség végéig

Átültetés a petevezetékbe:

2 napos donor — 1 napos receptor: 58%-os fejlődés a terhesség végéig

2 napos donor — 2 napos receptor: 5%-os fejlődés a terhesség végéig

1 napos donor — 1 napos receptor: 50%-os fejlődés a terhesség végéig

1 napos donor — 0 napos receptor: 35%-os fejlődés a terhesség végéig

1 napos donor — 2 napos receptor: 5%-os fejlődés a terhesség végéig

A fenti eredmények elemzéséből nyilvánvaló, hogy mind a méhbe, mind a
petevezetékbe való átültetés esetében az egy napos különbséggel aszinkron
kombináció optimális. Patkányról lévén szó (egéren nem ez a helyzet) a meg-
felelően időzített szinkron átültetés is adhat (mind a petevezetékben, mind
a méhben) optimális vagy megközelítően optimális eredményt. Ami az időzít-
tést, az átültetés számára kiválasztott terhességi fázist (napot) illeti,
ennek fontossága világosan kiderül például abból, hogy míg a negyedik napon
történő átültetés (szinkron vagy aszinkron) optimális eredményre vezet, ad-
dig egy nappal később, az ötödik terhességi napon, az átültetés gyakorlati-
lag eredménytelen. Az időzítés kérdésére a következőkben még visszatérünk.

McLaren és Michie [64] egéren vizsgálták a különböző terhességi korú donor—receptor kombinációk hatását az átültetésre. Eredményeik a következő táblázatban összegezhetők:

IV. táblázat

Donor terhességi stádiuma	Receptor terhességi stádiuma	Átültetett embriók átlagos száma	Terhes receptorok száma	"Idegen" embriók száma	"Idegen" embriók átlagos száma/terhes állat
2 1/2 nap	3 1/2 nap	15,4	8	0	0,0
3 1/2 nap	3 1/2 nap	7,2	15	11	0,7
2 1/2 nap	2 1/2 nap	9,9	9	10	1,1
3 1/2 nap	2 1/2 nap	9,2	15	30	2,0

Amint az a táblázat adataiból kitűnik, optimális eredményt csupán a donor számára egy napos előnnyel aszinkron átültetés biztosított. A fordított, a receptor egy napos előnyével végzett átültetés (mint különben a patkány esetében is) teljes eredménytelenséghez vezet. A szinkron átültetés (még megfelelő időzítés esetében is) lényegesen kevésbé eredményes.

Előző kísérletek során [25] megállapíthatták, hogy a receptor számára egy napos előnnyel aszinkron átültetett patkányembriók az ötödik napig normálisan fejlődnek, majd elhalnak. A donor számára egy napos előnnyel aszinkron átültetéskor viszont az "idegen" embriók csupán a receptor ötödik terhességi napján ágyazódnak be, mintegy késlekedve, megvárva ezt a "megfelelő" terhességi fázist. Egéren végzett kísérleteikből [78] szintén kiderült, hogy 2 napos receptorba átültetett, illetve a receptor terhességi koránál fiatalabb embriók nem fogamzanak meg.

A szinkronizálással kapcsolatos érdekes megállapítás, hogy egérenél a petevezetékben kialakult morulák és blasztociszták (a petevezeték—méh átmenet lekötése után) tovább fejlődhetnek és beágyazódhatnak, ha a méhbe ültetjük át őket [7, 53]. Kirby adatai szerint 4 1/2 terhességi nap után ez a potencialitás elvész.

*

A fejlődési stádium lényeges szerepet játszik az igen korai átültetésekben is (meg nem termékenyített petesejt, zigóta, a barázdálódás kezdeti szakasza). Alább következik néhány ezzel kapcsolatos kísérletes megfigyelés.

Runner és Palm [79] szerint, ha érett petesejteket ültetünk át — mindjárt a tüszőrepedést követően — a receptor petevezetékébe, úgy azok 14%-ban tovább fejlődnek. 4 órával a tüszőrepedés után a fejlődés kilátásai csökkennek, míg a 8 órával tüszőrepedés után végzett átültetés teljesen eredménytelen. Wittingham és Biggers (1967, [23]) eredményei szerint a két blasztomérás stádium fejlődéséhez egy "petevezeték-faktor"-ra van szükség. Ez a fejlődési stádium valóban igen jól fejlődik (70%), ha a petevezetékbe ültetjük át [85], míg a méhben fejlődési lehetőségei igen csekélyek. Junk-Csung-Wu (1975, [23]) megkísérelte ezen jelenség determinizmusának felderítését. Két blasztomérás embriókat ültetett át nőstény patkányok méhébe, a petefészek eltávolítása után (ami, a szerző feltételezése szerint, kiiktat bizonyos, a méhben ható "gátló" hormonális vagy más természetű tényezőket). A 3-ik illetve 4-ik terhességi napon végzett átültetés után 14, illetve 32%-ban alakultak ki blasztociszták, amelyek, megfelelő terhességi korú receptorba továbbülteve születésig fejlődtek. A többi átültetett embrió 2—3 nappal az átültetés után különféle elváltozásokat mutatott (a blasztomérák hólyagos degenerációja, fragmentálódás stb.).

VI. FAJOK KÖZÖTTI (HETEROSPECIFIKUS) ÁTÜLTETÉS

Már említettük, hogy a fajok közötti átültetés kérdésével számos kutatás foglalkozott. A következőkben főleg azokkal a heterospecifikus átültetésekkel foglalkozunk, amelyekben donor vagy receptorként egeret vagy patkányt használtak.

Briones és Beatty [19] 9 kombinációban valósított meg ilyen átültetést, egér, patkány, tengerimalac és házinyúl között. Különböző korú embriókat ültettek át a petefészek bursa-jába, a petevezetékbe és a méhbe, mind sebészi, mind nem-sebészi, transzvaginalis módszer segítségével. Az eredményt 1—2 nappal a beavatkozás után ellenőrizték. A kombinációk közül a házinyúl → egér, patkány, tengerimalac és az egér → patkány, tengerimalac, házinyúl kombinációban észleltek változó mértékű fejlődést, míg a patkány → egér, házinyúl és a tengerimalac → házinyúl kombinációban semmilyen fejlődés sem volt tapasztalható. Legnagyobb százalékban a házinyúl embriók fejlődtek átültetés után (38%).

Elsőként Blaha és DeFeo (1964, [23]) kísérte meg heterospecifikus átültetést patkány és hörcsög között. 4–5 napos embriókat ültettek át, aszinkron módon (egy napos különbséggel) a hörcsögök méhébe, de nem észleltek decidua képződést. 68, háromnapos hörcsögembrióból, amelyet 4 napos áltérhes patkányméhbe ültettek, 26 beágyazódott, de röviddel a beágyazódás után elpusztult. Yang kísérleteiben [23] áltérhes hörcsögök bursa ovarii-jába átültetett patkányzigóták és korai barázdálódási stádiumú embriók a petevezetékben morula, illetve blasztociszta stádiumig fejlődtek. Az áltérhes hörcsögméhbe átültetett patkánymorulák viszont, bár blasztocisztává alakultak, igen ritkán váltottak ki deciduaképződést. Áltérhes patkányok bursa ovarii-jába ültetett hörcsögzigóták, illetve korai, barázdálódó embriók a petevezetékben 3 napon belül degenerálódtak, áltérhes patkányméhbe ültetett hörcsögmorulák bár nem ágyazódtak be, 17%-ban decidua fejlődött ki jelenlétükben.

Brinster és Tenbroeck [18] egérzigótákat és 2 blasztomérás egérembriókat ültettek át házinyúl petevezetékébe. 730 zigótánál semmilyen fejlődés sem volt kimutatható, míg 540 2 blasztomérás embrió közül 141 blasztociszta stádiumig fejlődött.

Tsunoda és mtsai [92] vizsgálataiban egyrészt a megváltozott hormonális "konstelláció", másrészt bizonyos hormonkezelés hatását vizsgálta eltávolított petefészékű nőstény patkányok méhébe átültetett házinyúl morulák fejlődésére. Az átültetett embriók blasztociszta stádiumig fejlődtek mind a progeszteronnal (10 mg/naponta, 7 napig) és ösztradiollal (100 µg az utolsó terhességi napon) kezelt, mind a nem kezelt receptorok méhében.

Tarkowski [88] részletesen tanulmányozta az egér és a patkány között végzett keresztezett heterospecifikus átültetést. Kísérleteiben egyfelől 2–8 blasztomérás egérembriókat, másfelől 2–4–8 blasztomérás patkányembriókat használt. Az egér petevezetékbe ültetett patkányembriók elérhetik a blasztociszta stádiumot, de egy részük rendellenesen fejlődik, és embrioblaszt nélküli, ún. trofoblaszt hólyaggá alakul. A patkány petevezetékbe ültetett egérembriók viszont normális blasztocisztává alakulnak. Mindkét kombináció esetében megfigyelhető volt a decidua képződése, de a beágyazódás kezdeti jelenségei (az embrió trofoblasztja és a méhhám közti érintkezés, a méhhám degenerációja stb.) rendellenesen alakultak. A maximális túlélés egér → patkány esetében 7 naposnak, míg patkány → egér esetében 8 naposnak bizonyult.

Tachi és Tachi [86] a heterospecifikus transzplantáció utáni beágyazódást elektronmikroszkópos vizsgálatnak vetették alá. E célból 5 napos patkány blasztocisztákat ültettek át 3 napos áltérhes egerek méhébe. A 430

átültetés közül 37-et vizsgáltak meg 36—120 órával a beavatkozás után. Legfontosabb és bizonyos fokig váratlan megállapításuk az volt, hogy különböző minőségű sejtközötti kapcsolatok alakulnak ki a patkány trofoblaszt és az eger méhhám között (dezmoszómak, zonulae adherentes stb.). Ugyanakkor megállapítást nyert, hogy a méhhám borális membránján való áthatolás után a trofoblaszt sejtszejtjei degenerálódnak, legkésőbb 96 órával az átültetés után.

Az idézett adatokból világosan kitűnik, hogy az említett állatfajok esetében és az eddigi technikai feltételek mellett a heterospecifikus átültetés csupán az átültetett embriók korlátozott, aránylag rövid ideig tartó fejlődéséhez vezet. Nem sikerült — legalább eddig — eredményes beágyazódást vagy akár részleges beágyazódás utáni fejlődést elérni. Jegyezzük meg ennek ellenére, hogy az idegen, átültetett embrió trofoblasztsejtjei mégis képesek kapcsolatot teremteni a receptor méhének hámszövetével (lásd [83] megfigyeléseit), és hogy, ha időlegesen is, bizonyos százalékban az átültetett embriók további fejlődése, sőt beágyazódása is végbemegy.

VII. BEÁGYAZÓDÁS ELŐTTI EMBRIÓK MÉHEN KÍVÜLI ÁTÜLTETÉSE

Van a laboratóriumi emlősök fiatal, beágyazódás előtti embrióinak átültetésével kapcsolatban egy kutatási terület, amely, bár különbözik az eddigiektől, biológiai jelentőségénél fogva feltétlenül figyelmet érdemel. Morulákat, blasztocisztákat ugyanis nemcsak egy "mostoha" állat méhébe lehet átültetni, hanem a receptor állat legkülönbözőbb méhen kívüli részeibe.

Érdeemes megemlíteni, hogy fiatal, beágyazódás előtti embriók méhen kívüli átültetését először a daganatok patogenezisének tisztázására kísérelték meg, pontosabban azon elmélet ellenőrzésének céljából, amely szerint a daganatos növekedés rendellenes elhelyezkedésű (disztópikus) embrionális jellegű szövetekből indul ki (Recklinghausen, 1883; Petrov, 1908; Bovens, 1926, [74]). Az embriókat, ebben az első kísérletben [74] a receptor veseburka alá ültették. Valamivel később, szintén más céllal, kidolgozzák az elülső szemcsarnokba való átültetést, először felnőtt szövetekkel együtt. Ilyen "előzmények" után, századunk V. és VII. évtizede között dolgozták ki a megfelelő kísérleti módszereket, beleértve a fent említett, elsőként bevezetett technikák használatát is.

Az V. táblázat szinoptikus összefoglalását adja az e téren végzett fontosabb kísérleteknek és azok eredményeinek.

Átültetett embrió		Receptor állat		Átültetés helye	Átültetés utáni fejlődés	
Állat-faj	Stádium	Állat-faj	Nem. Élettani állapot		Embr. strukt.	Extra-embr. strukt.
egér	zigóta blasztociszta	egér	?	elülső szemcsarok	4-8 nap	4-15 nap
egér	8-10 blasztoméra	egér	♂ (herélt) ♀ (éretlen)	elülső szemcsarok	15 nap	15 nap
patkány	2-4 blasztoméra	patkány	♂ ♀	vesetok alá	?	?
egér	4-8 blasztoméra	egér	♂ ♀	vesetok alá	—	12-14 nap
egér	1 blasztoméra blasztociszta	egér	♂ ♀ (terhes, nem terhes)	vesetok alá	?	?
egér	blasztociszta (előzetes tenyésztés)	egér	♂ ♀	vesetok alá	?	?
egér	1 blasztomérától blasztocisztáig	egér	♂ ♀	vesetok alá	?	?

táblázat

Makroszkópos lelet	Mikroszkópos lelet				Szerzők
	Beágyazódás utáni struktúrák		Egyéb megfigyelés	Megjegyzések	
	Embr.	Extra-embr.			
irisz és cornea vérzés	csíralemezek	óriás-sejtek	zona pellucida elvesztése	—	[79]
vérzés és ödéma	ICM* gyenge dif.	burjánzó trofoblaszt, óriás-sejtek	zona pellucida elvesztése, sejtes és érreakció	többes átültetés — gátlás	[32]
?	csont-, ideg-, izom-, bél-szövet	burjánzó trofoblaszt, óriás-sejtek	betokoló-dás, nekrozis	csak hisztogenezis	[74]
vérzéses tömeg	—	burjánzó trofobl., óriás-sejtek, Reichert-hártya, erezett szikhólyag vérképzés	vérzés és ödéma a vese-szövetben	többes átültetés — gátlás	[33]
?	embrió-pajzs származékok	extraembriónális burkok, óriás-sejtek	—	—	[53]
?	20—21 % embrionális differenciálódás	extraembriónális burkok, óriás-sejtek	—	—	[10]
?	blasztocisztából 40 % embr. differenciálódás	trofoblaszt és embr. burkok	—	—	[54]

Átültetett embrió		Receptor állat		Átültetés helye	Átültetés utáni fejlődés	
Állat-faj	Stádium	Állat-faj	Nem. Élettani állapot		Embr. strukt.	Extra-embr. strukt.
egér	blasztociszta	egér	?	vesetok alá	?	?
patkány	blasztociszta	patkány	?	vesetok alá	?	?
egér	blasztociszta	patkány	?	vesetok alá	?	?
patkány	blasztociszta	egér	?	vesetok alá	?	?
egér	blasztociszta	egér	♂	hereburok alá	?	?
egér	blasztociszta (előzetes tenyésztés)	egér	♂	hereburok alá	?	?
egér	blasztociszta	egér	♂ (felnőtt) ♀ (szűz) ♀ (terhes)	léptok alá	2-9 nap	?

ICM: az embrioblaszt közhasznú angol nyelvű nevének (internal cell mass) rövidítése.

folytatása

Makroszkópos lelet	Mikroszkópos lelet				Szerzők
	Beágyazódás utáni struktúrák		Egyéb megfigyelés	Megjegyzések	
	Embr.	Extra-embr.			
?	embrionális struktúrák 22%-ban	invazív trofoblaszt 22%-ban	--	--	[54]
?	embrionális struktúrák nélkül	trofoblaszt származékok	--	--	[53]
?	2 esetben 43-ból részben elhalt embriotipikus struktúrák	bőséges invazív trofoblaszt	--	--	[53]
?	--	30%-ban kevés trofoblaszt származék	--	--	[53]
?	36%-ban embr. fejlődés. Számos normális embrió	64% trofoblaszt, embr. burkok	--	Kryptorchidiás herénél 4% embrionális struktúra	[55]
?	Brinster-táptalaj: 9% fogamzás (1 normális) Mullard-táptalaj: 28% fogamzás (19 különb. embrió)	12 esetben 57 esetben	--	--	[10]
duzzadt, formátlan lép, 30% vérzéssel, 70% anélkül	2 esetben (1 normális embrió)	valamennyi esetben erős növekedés; óriássejtek	--	receptor neme befolyás nélkül	[56]

A táblázatban szereplő kísérleteken kívül több megfigyelés létezik átültetett fiatal embriók hashártyaüregbeli "megfogamzásával" és fejlődésével kapcsolatban. Így [65] említi, hogy egér blasztociszták méhbe való átültetésével kapcsolatban, zona pellucida⁷ mentes blasztociszták, a beavatkozás során a hashártyaüregbe kerülve, megfogantak és fejlődni kezdtek. Később, a szerzők akaratlagosan juttattak zonával körülvelt vagy zona nélküli blasztocisztákat a hashártya üregébe, igen csekély (1,1%-os) fogamzást és igen ritkán embrionális struktúrák kialakulását figyelve meg.

A hashártyaüregben történő beágyazódást más szerzők (Castle, 1916; Bland és Donovan, 1965, [10] — tengerimalacnál; [32] és [73] — egérnél; Jollie, 1961, [10] — patkánynál) a következő módszerrel vizsgálták: a barázdálódott embriók áthaladása előtt lekötötték a petevezeték—méh átmenetet és átmetszték a petevezeték disztális végét. Ilyen körülmények között a petevezetékben levő embriók bejuthatnak a hasüregbe. A közölt eredmények közül [73] megfigyelése, miszerint 5 esetben talált a "megfogant" blasztocisztákból teljesen kialakult magzatot, utólagos kísérletek során nem nyert megerősítést. Érdekes, hogy embernél Streeter (1925, [57]) közölt egy esetet, amelyben a tévedésből a hasfalhoz varrt méhkürtben teljesen kifejlődött egy magzat. Még közelebb áll a fent említett kísérletekhez az a Budapesten császármetszéssel született gyermek, aki, méhen kívüli, hasüregi beágyazódás után a méh külső felszínén fejlődött (1981).

Két másik kísérleti modell (a táblázatban idézettek kivételével) megkísérelte a beágyazódást a bél nyálkahártyáján létrehozni [75]. Az első esetében a patkány blasztocisztákat izolált jejunum kacs lumenébe vitték át, negatív eredménnyel. A másodiknál a jejunum kacsot az elmetesztett méhszarv két része közé iktattak. Az "átültetés" nem jelentett mást, mint a saját, normális tüszőrepedésből származó embriók méhbejutását, illetve beágyazódását (természetes úton végbement megtermékenyítés után). Az embriók egy része igen ritkán a közbeiktatott bélkacs nyálkahártyáján tapadt meg és mutatott is bizonyos fejlődést, tulajdonképpen placentaképződés nélkül.

Milyen általános megállapításokat tehetünk a különböző kísérleti változatok eredményei alapján?

⁷Zona pellucida: az érett petesejtet és zigótát körülvevő és közvetlenül a beágyazódást megelőző fázisig az embrió is burkoló homogén struktúrájú, glükozaminoglikánokból és fehérjékből álló burok, amelyből — a beágyazódást megelőzően — a blasztociszta "kikel", illetve amelyet külső behatásra, elveszít (a kérdés még nincs pontosan tisztázva).

1. Tagadhatatlan tény, hogy — mind egéren, mind patkányon — beágyazódás előtti embriók "megfogamzása" és (egyres esetekben) további fejlődése különböző méhen kívüli elhelyeződésben lehetséges. Egy szintetikus, elsősorban metodológiai munkában [58] a következő "fogamzási" százalékarányt adja meg a különböző átültetési változatok szerint: a herezacskóban lévő vagy leszállásában akadályozott here — 80—90% veseburok alatt — 80%, agy — 50—60%, lép és elülső szemcsarnok — 25—35%.

Annak tisztázása, hogy milyen tényezőktől függ a "megfogamzás", meglehetősen nehéz. Kirby [53, 54] szerint a fogamzás gyakorisága egyenes arányban nő az átültetett embriók fejlődési stádiumával. Egyes megfigyelések szerint a receptor zona hőmérséklete is befolyást gyakorolhat: az egyik legelőnyösebb átültetési hely, az elülső szemcsarnok hőmérséklete patkánynál 5°C-kal alacsonyabb, mint az általános testhőmérséklet. A herébe végzett átültetés esetében a herezacskóban levő herében megfigyelt jobb fogamzás és fejlődés — a művileg a hasüregben visszatartott herével összehasonlítva — valószínűleg a normális elhelyeződésű szerv alacsonyabb hőmérsékletének tudható be [55]. Megjegyzendő, hogy a zona pellucidával rendelkező blasztociszták átültetésekor, az átültetés helyén az embriók elvesztik burkukat (pl. az elülső szemcsarnokban [32]).

Kirby [53, 54, 57] szerint a méhen kívüli "beágyazódás" megfelelő embrionális struktúrák (csíralemezek stb.) kialakulásával csak akkor lehetséges, ha előzőleg az átültetendő embriót bizonyos méhbeli tényezők "előkészítették". Emellett szól többek között: a petevezetékéből származó (illetve a lekötés segítségével abban visszatartott) embriókból nem alakulnak ki a fent említett struktúrák; hasonló a helyzet olyan embriók esetében, amelyek a rendesenél korábban kerültek át a méhbe (a veseburok alá történő beültetés esetén). Ugyanezen helyre ültetett 8 blasztomérás embriók, szuboptimális médiumban történt közbeiktatott tenyésztés után nem mutattak fejlődést (Whitton, 1956, [57]).

2. Az esetek egy bizonyos, változó százalékában, a "megfogant" embriók tovább fejlődnek, embrionális szövetek és struktúrák alakulnak ki vagy — egyes esetekben — teljes beágyazódás utáni embriók. Az utóbbiak olykor megközelítik a normális 9—11 napos embriók küllemét és — nagyon ritkán — mint [56] egyik esetében, gyakorlatilag teljesen normális embrió alakul ki.

3. Valamennyi méhen kívüli átültetést megvalósító modell esetében, az embrió függelékei, mindenekelőtt a trofoblaszt különleges életképességet mutatnak és erősen burjánzanak. A trofoblaszt sejtjeinek invazív jellege, mint probléma, túllépi ezen jegyzetek célkitűzését. Itt csupán jellezzük az óri-

ássejtek megjelenését (olykor az átültetés helyén szinte kizárólag ilyen sejteket találunk). Ez melleleg szólva (ahogy [33] és mások is aláhúzzák) ezen sejtek embrionális eredetét bizonyítja szemben az anyai, decíduális stb. eredetet feltételező hipotézisekkel. Sőt, úgy tűnik [33, 35], hogy a méhen kívüli átültetések esetében, az embrionális struktúrák és a trofoblaszt fejlődése fordított arányban áll, a trofoblaszt erős burjánzása gátolja az embrionális struktúrák fejlődését. Erre utal közvetve az a megfigyelés is, hogy az embrionális eredetű teratoma és a trofoblaszt eredetű tumor, a chorioepitelioma nem fordul elő együttesen.

4. A beágyazódás egyes tisztázatlan kérdései (amelyek vizsgálata többek között szintén célja a méhen kívüli embrióátültetéssel végzett kísérleteknek) nem tisztázódtak egyértelműen a tárgyalt kísérleti modell révén. Így például a trofoblaszt sejtoldó hatása, amely komoly szerephez jutna a beágyazódás során, jelen van a herébe való átültetéskor [55], de nincs jelen a lépbe történő átültetéskor. A beágyazódás egyik megoldatlan kérdése (több embrió állatoknál), a beágyazódó blasztocisztából kiinduló esetleges gátló hatás, amely csak bizonyos távolságra "enged" újra beágyazódni. Nos, az elülő szemcsarnokban egy blasztociszta megtapadása valóban gátolja a többi beágyazódást [32], a veseburok alatti átültetésnél viszont ez már nem tapasztalható.

5. Az egyik legmeglepőbb és legjelentősebb megállapítás, amely az átültetési kísérletekből adódik, az, hogy a "fogamzás" és a további fejlődés nem függ a receptor törzsetől, nemétől, élettani állapotától, hormonális konstellációjától stb. Ha arra gondolunk, hogy in utero a beágyazódás folyamata rendkívül pontosan időzített és bizonyos feltételekhez kötött, hogy ez a folyamat mennyire függvénye számos helyi és általános tényezőnek, tehát hogy egy jól elhatárolt, erősen determinált folyamatról van szó, akkor a fentiekre nehéz magyarázatot találni. A normális, méhen belüli beágyazódás során az embrió és a méhnyálkahártya közötti első kontaktustól kezdve (sőt valószínűleg már azt megelőzően), a hatások és kölcsönhatások "beütemezett" sorozata zajlik le: a zona pellucidából való "kikelés", keringési és érelváltozások, a decídua kialakulása, a trofoblaszt, majd az egész embrió behatolása és rögzülése, méhám-élváltozások, óriássejtek képződése, a Reichert-féle hártya képződése, a decídua differenciálódása stb., stb. mindez részben az embrió, részben a méh által termelt anyagok hatása alatt (hisztamin, ciklikus AMP, prosztaglandin stb.), valamint egy szinte órára "beállított" hormonhatás szekvencia eredményeképpen: előkészítő ösztrogén, progeszteron kiváltó ösztrogén és így tovább (lásd többek között [2, 31, 37, 76, 83]).

A méhen kívüli átültetésnél mindez hiányzik, illetve más körülmények között jelentkezhethet, és — bár nem szólhatunk tényleges, teljes beágyazódásról és továbbfejlődésről — mégis van túlélés, szövet differenciálódás és, a trofoblaszt esetében, kifejezett növekedés, sejtburjánzás is. Elméletileg gondolhatunk a szokatlan körülmények között megnyilvánuló adaptációs készségre, de a konkrét mechanizmusok felderítése új kísérleti modellekre vár.

A fenti megállapítások részben nemcsak a méhen kívüli átültetésre vonatkoznak, hiszen ha egy kissé utánagondolunk, a "mostoha" méh üregébe való átültetés is új, a normálistól eltérő környezetbe juttatja a más állatból származó embriókat. Ha el is tekintünk a méhből vagy petevezetékéből való eltávolítás (kimosás) és a receptor méhébe, illetve petevezetékébe való bejuttatás kétségtelen traumájától, a megváltozott közvetlen környezetnek, a mégoly pontos időzítés esetén sem teljesen azonos hormonális státusnak stb. mindenképpen befolyást kellene gyakorolnia az "idegen" embriók sorsára. Nem szabad elfelejtenünk azt sem, hogy több ilyen irányú vizsgálat tanúsága szerint (főleg emberen) a beágyazódás előtti korai fejlődési stádiumok ún. "normális" veszteség, illetve pusztulási arányszáma igen magas (kb. 31%) ([48]; Hertig, 1967, [96]). Ez, közvetve, különböző, egyelőre ismeretlen külső és belső tényezőkkel szembeni fokozott érzékenységre utal. Szintén ezen stádiumok "labilitását", a környezeti változások iránti érzékenységét példázzák a korai embriók tenyésztésének problémái, valamint az anyai szervezeten kívüli fejlődéshez szükséges bonyolult táptalajok is. Ebben a vonatkozásban még egy paradox megfigyelés is nehezíti a dolgok megértését: amint már említettük, a korai patkány embriók nehezen tenyészthetők, ugyanakkor azonban, az eddigi tapasztalatok szerint (többek között saját eredményeink szerint is) ugyanezen embriók átültetése "idegen" méhbe vagy petevezetékbe eredményesebb, mint az igen jól tenyészthető egérembrióké!

Mindezt egybevetve, bármennyire is rutin módszerré vált az embrióátültetés, bármennyire is megszoktuk az átültetett embriók kb. felének vagy nagyobb százalékának beágyazódását és gyakorlatilag teljes értékű továbbfejlődését, mégsem értjük, milyen adaptációs mechanizmusok biztosítják ezt az eredményt. (A teljesség kedvéért azért ne feledjük, hogy az embrióknak kb. 30—50%-a nem ágyazódik be, ami minden bizonnyal éppen mint "inadaptációs" jelenség fogható fel.) És... hátra van még egy kérdés, a születés előtti élet egyik legérdekesebb és mindmáig részlegesen megoldott problémája, amely szintén egyaránt vonatkozik a méhen belüli és a méhen kívüli átültetésre, sőt, ugyanilyen mértékben a normális, minden beavatkozástól mentes terhességre, illetve embrionális és magzati fejlődésre.

A zigóta és a belőle képződő embrió (talán helyesebben az új, kialakuló egyed) két, genetikai szempontból különböző heterogén nemisejt egyesüléséből származik. Ennek megfelelően, a fejlődő embrió, a beágyazódó embrió, a továbbfejlődő embrió, illetve a későbbi magzat az anya szervezetétől részben eltérő genetikai "poggyással" rendelkezik, ami — többek között — azt is jelenti, hogy immunbiológiai szempontból is különböznek. Röviden: a beágyazódó, tehát az anyai szövetekkel intim kapcsolatba kerülő embrió joggal tekinthető testidegen sejt, illetve szövet komplexusnak, speciális hetero-transzplantátumnak. Mármost köztudomású, hogy az ilyen transzplantátum ellen bármelyik normális, élő állati vagy emberi szervezetben különböző immunreakciók lépnek fel, amelyek célja a testidegen transzplantátum elhatárolása, semlegesítése, elpusztítása és — végső fokon — a szervezetből való eltávolítása. Miért nem történik mindez a beágyazódó embrió esetében? Mi teszi lehetővé az anyaméh, helyesebben az anyai szervezet és a fejlődő embrió tartós "szimbiozist"? Erre az alapvető kérdésre sokan keresték a választ, de, bár jó néhány részlet tisztázódott és nagyszámú érdekes és beszédes kísérlet született, a végleges, meggyőző, egyértelmű válasz még késik. E jegyzeteknek nem lehet célja ennek az önmagában is igen bonyolult kérdésnek a részletes elemzése. Csupán felvázoljuk a kutatás irányait és az eddigi eredményekből adódó néhány következtetést.

Elméletileg négy fő oka lehet (eddigi ismereteink szerint) az anyai szervezet és a beágyazódó, fejlődő embrió és magzat közötti "kompatibilitás"-nak (lásd [6, 9, 11] stb.).

a) Az embrió és függelékeinek immunológiai éretlensége (nincs antigén jellegük vagy túl gyenge antigének).

b) Az anyai szervezet immunológiailag nem kompetens (a terhes állat immunreaktivitása csökkent vagy megszűnik).

c) A méh immunológiai szempontból különleges helyzetben van (helyi reaktivitás hiány).

d) Az anyai szervezet és az embrionális szövetek között "immunológiai választófal", "gát" létezik.

Valamennyi felsorolt lehetőséget számos kísérletes vizsgálat igyekezett bizonyítani vagy megdönteni. Az eddigi eredmények szerint leginkább valószínűnek az utolsónak idézett lehetőség tűnik, de az sincs kizárva, hogy több mechanizmus együttes hatásáról van szó.

Mindez elsősorban a normális terhességre vonatkozik. Az embrióátültetés kapcsán a helyzet még bonyolultabbá válik, hiszen ebben az esetben nemcsak az apai öröklés játszik szerepet, hanem (különösen ha nem genetikailag egy-

séges inbred törzson belüli átültetéséről van szó) anyai részről is heterogén az embrió. Így az átültetés nagy százalékban pozitív eredménye még kevésbé magyarázható.

VIII. AZ EMBRIÓÁTÜLTETÉS FELHASZNÁLÁSA A KUTATÁSBAN ÉS A GYAKORLATBAN

Egy kísérleti, kutatási módszer értékét az általa elért eredmények határozzák meg. Az embrióátültetés sem mint öncélú kísérlet született, hanem — mint láttuk — mindjárt kezdetben fontos, a születés előtti élet, a szaporodás szempontjából fontos kérdések tisztázását tűzte ki célul. A Heape megfigyelései óta eltelt több mint kilenc évtized utolsó harmadában az általa bevezetett módszer egyike lett a születés előtti normális és kóros fejlődés vizsgálata legjelentősebb segítőeszközeinek, az emlős állatoknál általában és a laboratóriumi emlősöknél különösen. A jelen pillanatig az embrióátültetés legalább a következő területeken járult hozzá eredmények és megoldások eléréséhez (elsődleges vagy kiegészítő módszerként):

1. A beágyazódás előtti fejlődési stádiumok kísérletes vizsgálata, kísérletes fejlődésgenetikai vizsgálatok, a születés előtti patológia kísérletes vizsgálata

Az emlősökön végzett kísérletes fejlődéstani vizsgálatok aránylag igen rövid múltra tekintenek vissza. Néhány, fejlett magzati stádiumban történő kísérletes műtéti beavatkozáson kívül, a két alapvető kísérleti segédeszköz, a korai embriók tenyésztésének⁸ és átültetésének kidolgozásáig aligha beszélhetünk rendszeres, eredményes kutatásról ezen a területen. Az utolsó két és fél évtized alatt azonban, az említett technikai lehetőségeket kihasználva, különösen a beágyazódás előtti stádiumokban végzett kísérletek indultak rohamos fejlődésnek. Ennek megvan a maga különös fontossága (más stádiumokban végzett kísérletekkel szemben), mivel éppen az ebben a fejlődési szakaszban a petevezetékben és méhben még szabadon mozgó zigóta, illetve fejlődő embrió "helyzete" hasonlítható legjobban a hasonló korú emberi embrió "helyzetéhez". Ezért, az ebben a fejlődési szakaszban végzett kísérletek eredményei — kellő szkepszissel — bizonyos mértékig extrapolálhatók emberre is.

⁸...beleértve a beágyazódás utáni embriók tenyésztését is, amelyről, e jegyzetek témakörét tekintve, nem szólnunk.

Lássunk a következőkben néhány olyan alapvető problémát és kísérletet, amelyben az embrióátültetés lényeges szerepet játszott.

a) Mint ismeretes, a fejlődésbiológia egyik leglényegesebb kérdése a differenciálódás mikéntje. Ezen belül tevődik fel a primér, kezdeti differenciálódás problémája: mikor, melyik fejlődési stádiumban kezd az eleinte látszólag azonos "értékű" blasztomérákból álló morula egy része az embrioblaszt (amelyből az embrió alakul ki), más része a trofoblaszt felé differenciálódni? A kérdés kísérletes vizsgálatának egyik fontos módszere a korai blasztomérák izolálása és azok fejlődési potenciáljának ellenőrzése [88]. Ez leginkább úgy érhető el, hogyan izolált blasztomérát "mostoha" anyába ültetjük. Nem célunk ennek a kutatási iránynak részletes taglalása, csak megemlítjük, hogy a kezdetben igen nagy regulációs képességet mutató blasztomérák fokozatosan elvesztik gyakorlatilag omnipotens jellegüket.

Gardner és mtsai [41, 42] más úton vizsgálták a differenciálódás kérdését és a blasztociszta alkotórészeinek fejlődési potenciálját. Kimosott homeo- vagy heterospecifikus morulák vagy blasztociszták sejtjeit vagy sejtcsoportjait fecskendezik be más morulák zónája alá vagy más blasztocisztákba, majd álterhes méhbe való átültetés után bizonyos időre genetikailag meghatározott vegyi stb. tulajdonságaik alapján követik a bejuttatott blasztomérák sorsát. Ugyanez az angliai kollektíva rendkívül elegáns, a legfinomabb technikát igénylő kísérletekkel (így például a blasztociszta pontos részekre való osztásával stb.) kombinálta a méhbe való átültetést, hiszen világos, hogy csak így biztosítható a kísérleti beavatkozások kimenetelének hosszas megfigyelése. Ezek a kísérletek komoly lépést tettek lehetővé a blasztociszta részei további "sorsának" megismerését illetően.

Végül hozzuk fel példának az emlősök kísérleti fejlődéstanának és fejlődésgenetikájának egyik legelőretoltabb frontvonalát. Tarkowski [90], majd Mintz [69] dolgozta ki azt a kísérleti modellt, amely a kutatási irány alapját képezi: néhány blasztomérás stádiumban (utóbb már fejlett morula, sőt blasztociszta stádiumban is), a zona pellucida előzetes eltávolítása után, megfelelő tápfolyadékban, két genetikailag különböző embrió egyesíthető. Mivel a kialakuló, fejlődő embrió sejtjeiben a "jelző" (marker) tulajdonság követhető, ez a mesterséges kiméra⁹ lehetőséget nyújt az egyes sejtek, sejtpopulációk sorsának, szerepének, a morfogenezis számos folyamatának közvetlen megfigyelésére. Anélkül, hogy a kutatási irány igen széles ki-

⁹Kimérának nevezzük az olyan szervezetet, amelyben két különböző zigótából származó sejtek, sejtpopulációk vannak jelen.

dolgozott elméleti alapjait (pl. a klón-teóriát, az ún. "numerológiát" stb.) és az ezzel kapcsolatos vitákat elemeznénk, a jelen jegyzetek szemszögéből fontos arra rámutatnunk, hogy az egyesített embriókat megint csak méhbe ültetik át (ami nélkül értelmét vesztené az egész kísérlet). Ugyanez vonatkozik a kísérleti kimérák egy másik, Gardner által későbbben kidolgozott [40] válfajára, amely az egyik anyából származó blasztociszta embrioblasztját vagy egy-egy sejtjét juttatja egy másik anyából származó blasztocisztába. A Tarkowski — Mintz-modell segítségével különben igen fontos és eddig vitatott kérdések tisztázódtak (az embrionális izomsejtek eredete, az óriássejtek képződése stb.), új távlatok nyíltak pl. a mesterséges tolerancia irányában, egyes genetikailag determinált megbetegedések patogenezise vált érthetőbbé stb. Talán érdemes külön felemlíteni, hogy ezzel a modellel bizonyítást nyert, hogy a normális blasztomérákkal "egyesített" rosszindulatú teratocarcinoma sejtek képesek részt venni a normális fejlődésben [71]. A Gardner-modellel viszont elsősorban a blasztociszta részeinek fejlődéspotenciálját kutatták és tisztázták. Csak megemlítjük, hogy több lényeges fejlődésgenetikai kérdés (így például az X-kromoszóma inaktivációjának egyes kérdései, egyes génhatások időbeli megjelenése stb.) szintén a fenti módszerek segítségével, tehát egyben az átültetés segítségével nyert részleges vagy teljes tisztázást.

A fenti néhány példa világosan bizonyítja, hogy az embrióátültetés a modern kísérletes fejlődéstannak sine qua non módszere még akkor is, ha csupán kiegészítő módszer szerepét tekintjük, és nem vesszük figyelembe azt a nagyszámú fejlődésbiológiai problémát, amelynek vizsgálatát önmagában is elősegíti.

Hasonló a helyzet a születés előtti patológia bizonyos kutatási területeinek esetében. 1963-ban, Gottschewski és Zimmermann a blasztopátia elnevezést javasolta azon kóros elváltozások számára, amelyek — külső vagy öröklött, illetve az anyai szervezetből származó tényezők hatására — az embrió fejlődésének beágyazódás előtti szakaszában keletkeznek [47]. Ezen elváltozások kísérletesen létrehozott modelljei, az ún. kísérletes blasztopátiák, az utóbbi két évtized kísérletes teratológiai kutatásainak fontos részét képezik. Metodológiai szempontból több lehetőség kínálkozik. Létrehozhatunk blasztopátiákat in vivo, az anyaállat megfelelő terhességi időpontban való egyszeri vagy ismételt kezelésével (patkánynál az 1—5, egernél az 1—4 terhességi napon), vagy in vitro, a táptalajon fejlődő korai embriókon. Az első esetben figyelembe vehetjük az "azonnali" hatást, tehát még a beágyazódás előtt ellenőrizzük az embriók állapotát vagy nyomon kö-

vethetjük a beágyazódás utáni mikro- és makroszkopikus elváltozásokat, a születésig, sőt azután is. A második esetben viszont, a tenyésztés időben elhárított lehetőségeinél fogva csak az "azonnali" hatást észlelhetjük, ha... nem alkalmazzuk az átültetés módszerét. Az utóbbi (az előzőleg in vitro fejlődő embriók "mostoha" anyaméhbe való juttatása), természetesen megfelelő kontroll átültetések mellett, lehetőséget ad a megfigyelések születésig vagy éppen születés után való kiterjesztésére. Ez a "meghosszabbított" ellenőrzés igen jelentős, mivel csak ily módon tudjuk a korai közvetlen behatások kései következményeit kideríteni (halálozás, a fejlődés visszamaradása, esetleges fejlődési rendellenességek stb.). Ilyen kombinált módszerrel történtek kísérletek — többek között — röntgensugárzással [39], brómdeoxiuridinnel [43], egyes vírusfertőzésekkel [46], tripánkéssel [38, 59], a fehérjeszintézis különböző gátlóival (Bell és Glass, 1975; Piko és Chase, 1973 [85]) stb.

Az embrióátültetés másik fontos alkalmazási területét az ún. "keresztezett" átültetési kísérletek képezik. Lényegük a következő: előzőleg kezelt anyaállatból a beágyazódás előtti "kimosott" embriókat érintetlen, normális "mostoha" anyaállat méhébe ültetjük át, illetve normális anyaállat korai embrióit kezelt anyaállat méhébe juttatjuk. Ez a kombinált kísérleti modell mindenekelőtt arra enged következtetni, hogy a vizsgált vegyi, fizikai vagy más tényező mennyiben hat a méh-környezetre való befolyása, illetve közvetlenül az embrióra gyakorolt hatása révén. Sőt, megfelelő kísérleti terv esetén az is kideríthető, hogy mennyi idővel a beavatkozás után nyilvánul meg a közvetlen vagy közvetett kóros elváltozás, illetve hogy meddig van dolgunk reverzibilis, az embrió vagy a normalizált környezet által kompenzálható elváltozással. Ezzel a módszerrel tisztázták egéren az aktinomicin D [36], továbbá ugyanezen anyagcseregátló és a ciklofoszfamid hatásmechanizmusát [84]. Laboratóriumunkban, az általunk először részletesen elemzett kísérletes alkohol-blasztópátia egyes kérdéseinek tisztázása a "keresztezett" átültetés módszerével, most van folyamatban.

2. Az állattenyésztés egyes alapvető kérdéseinek megoldása

A fent jelzett kutatási, illetve sok tekintetben immár a mindennap gyakorlatát jelentő terület részletes ismertetése meghaladja ezen jegyzetek feladatát. Csupán a teljesség kedvéért (és rendkívüli gazdasági fontosságuk miatt) említjük meg a következőket:

Mint arról a bevezetésben már futólag szó esett, egyes háziállatok, így elsősorban a szarvasmarha, juh és disznó esetében, az embrióátültetést már rutin módszereknek tekinthetjük. Jelentősége egyrészt az állathozam számbeli növelésében nyilvánul meg (tehén esetében például a szokványos egy borjú helyett két borjú nyerhető). Másrészt — és ez még lényegesebb — lehetővé válnak az ameliorizáció, a fajtajavítás új útjai (pl. kiváló tulajdonságokkal rendelkező anyából származó embriókat ültetünk biológiailag alacsonyrendű áltérhes "mostoha" anyába stb.).

Az állandóan növekvő követelmények ezen a területen is e módszerek tökéletesítését eredményezik. Példaként említhetjük azt a juhokon már megvalósított módszert, amely nem egész embriókat, hanem előzőleg disszociált (elemekre bontott) fiatal morulák egy-egy vagy több különálló blasztoméráját juttatja a "mostoha" anya petevezetékébe. Nem kell külön aláhúzni, hogy ez a módszer, amennyiben elterjed és esetleg más állatfajoknál is beválik, milyen jelentős kihatással lesz az állattenyésztés eredményességének növelésére.

3. Embrióátültetés embernél

A közvélemény (beleértve az orvosi közvéleményt is) általában keveset tud arról a gyakran évtizedekig tartó, szerteágazó kutatómunkáról, amely megalapozza, megelőzi, lehetővé teszi a ritka, nagy visszhangot keltő orvosi-biológiai "szenzációk" létrejöttét. Ki ismerte, például, a szervátültetéssel kapcsolatos több évtizedes állatkísérletek kanyargós útjait, az intollerancia legyőzésére irányuló számtalan laboratóriumi erőfeszítést, amelyek talaján megszülettek a sikeres vese- stb. átültetés első eredményei, majd a nagy szenzáció, messze, a fokvárosi kórház műtőjében. Idézhetnénk a gyakran használt hasonlatot: a jéghegy vagy a korallzátony, amely a hajós szemébe ötlük, csupán csúcsa a vízfelszín alatti, sokkal nagyobb kiterjedésű résznek! Így volt ez akkor is, amikor Angliában szerencsésen a világra jött a kis Louise Brown, az első (helytelenül így nevezett) "lombik-bébi", s ezzel megindult a terméketlenség elleni küzdelem minőségileg új fejezete.

Nem célunk az embernél megvalósított embrióátültetés részletes elemzése, hiszen ez az utóbbi években kedvelt témája lett a "mass media" legkülönbözőbb csatornáin történő népszerűsítésnek. Szeretnénk mégis, e jegyzetek befejezéseként néhány ezzel kapcsolatos kérdést röviden megemlíteni, különösen mivel mindaz, amivel a fentiekben foglalkoztunk, az embrióátültetéssel kapcsolatos egyre terebélyesedő ismeretanyag, többek között éppen az emberi orvoslás ezen irányát alapozta meg.

Előljáróban szögezzük le, hogy az ember esetében — legalább egyelőre — az állatkísérletektől és az állattenyésztés gyakorlatától eltérő helyzetről van szó. Amint láttuk, az állatoknál végzett átültetés minden esetben homeo-, illetve heterotranszplantáció, mivel az embriókat az egyik anyaállatból a másikba juttatjuk (egyazon fajon belül vagy különböző fajú állatok felhasználásával). Embernél, az "átültetés" indítéka — a módszer alkalmazásának jelenlegi szakaszában — egyrészt a méhkürt kóros állapota, átjárhatóságának csökkenése vagy megszűnése, másrészt az ondósejtek termékenyítési potenciáljának zavarai. Ennek megfelelően a beavatkozás célja a petesejt megtermékenyítését, illetve a zigóta és az embrió méhbe jutását lehetetlenné tevő akadály megkerülése. Mivel ehhez az illető asszony saját petesejtjeit és embrióit használjuk fel, amelyek ugyancsak annak saját méhében jutnak, ez esetben autotranszplantációval állunk szemben. Ez bizonyos szempontból, biológiailag egyszerűbbé, megvalósíthatóbbá teszi az eljárást, helyesebben annak végső fázisát, az embrió méhbe juttatását és ottani "megfogamzását", beágyazódását (hiszen saját embrióról lévén szó, elesik az intolerancia, a szokatlan, idegen környezet problémája). A tehát látszólag és aránylag egyszerű módszer a valóságban igen hosszadalmas és bonyolult kísérletes előkészítés alapján valósult meg, és az emberi gyakorlatban is igen pontosan kidolgozott munkafolyamat-sorozat (nevezhetnénk technológiai folyamatnak) igényel.

Vázzuk fel ezt a folyamatot és tegyük mindjárt hozzá, hogy eddigi gyakorlati eredményei ellenére a módszer még távolról sem állapodott meg, egyes részproblémái továbbra is intenzív vizsgálódás tárgyát képezik.

Mivel a fent említett méhkürt-állapot miatt nem alakulhat ki normális úton, a termékenyítés folyamatának és a korai fejlődés fázisainak az anyai szervezeten kívül kell végbemenniök. Az első lépés tehát érett, közvetlenül ovuláció előtt álló petesejt nyérése, ami — Edwards és Steptoe [85] úttörő kísérletei alapján — a petefészek érett tüszőiből történik megfelelő hormonális előkészítés után. A következő feladat az eltávolított petesejtek életben tartása és szervezeten kívüli megtermékenyítése. Ezt könnyű így leírni, de nem könnyű megvalósítani: biztosítani kell a megfelelő táptalajt, a leendő apától nyert ondósejteket elő kell készíteni (életképesség-vizsgálat, bizonyos fiziko-kémiai behatásokkal elért ún. kapacitáció stb.), majd a petesejteket tartalmazó tápfolyadékba kell juttatni, ahol megtörténik a termékenyítés. A megtermékenyített petesejt (a zigóta) megkezdja fejlődését a tápfolyadékban (annak összetétele csak kevéssé változik). A kialakuló embrió (illetve általában 2–3 embrió) a korai morula (8–16 blasztómera) stádiumában, esetleg még előrehaladottabb állapotban juttatjuk az anya méhüregébe

(eltekintünk a transzvaginálisan történő beavatkozás klinikai részleteitől), ahol az esetek bizonyos százalékában egyikük megtapad, beágyazódik és a szokott módon fejlődik tovább. (Edwards és Steptoe 1979-ben közölt adatai szerint 32 átültetés 4 "sikeres" terhességhez, Lopata és mtsai [61] adatai szerint 14 embrióátültetés 2 "sikeres" terhességhez vezetett; 1981-ben, a baseli Fejlődéstani Kongresszuson, Lopata már 12 sikeres terhességről számolhatott be!)

Jelenleg az embrióátültetést embernél már számos országban megvalósították (Anglia, Ausztrália, Egyesült Államok, Franciaország, Ausztria, Csehszlovákia, Izrael, Német Szövetségi Köztársaság, Finnország stb.) és egyre több komplex, laboratóriumi-klinikai munkaegyüttes alakul. Bár a sikeres terhességek száma még aránylag csekély, a módszer "hatásfoka" állandóan javul, és elmondható, hogy a terméketlenség kezelésének immár megvalósult módszerével állunk szemben. Ezen alapvető eredmény mellett, az embernél történő embrióátültetésnek legalább még egy szempontból van nagy jelentősége: a módszerrel összefüggő manipulációk során lehetőség nyílik arra, hogy az ember fejlődése legkorábbi stádiumainak vizsgálatára anyagot nyerjünk, és eddigi igen hézagos ismereteinket ezen a téren bővítsük. A petefészkek tüszőiből nyert petesejtek és a tápfolyadékban fejlődő zigóták, illetve embriók egy része ugyanis morfológiai, biokémiai stb. vizsgálatokra használható fel. Emellett, ahogy az pl. a nemrég lezajlott, in vitro termékenyítéssel és embrióátültetéssel foglalkozó világkongresszus anyagaiból kitűnik [1], a gametogenezis, termékenyítés, általában az emberi fejlődésbiológia legkülönbözőbb vonatkozásainak kutatása is egyre szélesebb körben fejlődik.

Nem hallgathatjuk el, hogy az átültetéssel kapcsolatban általában (és az utóbb említett vizsgálatokkal kapcsolatban különösen) a kidolgozás tudományos problémáin kívül számos más természetű etikai, társadalmi stb. probléma is felmerült. Nem térhetünk ki ezek részleteire, csupán aláhúznánk, hogy több nemzetközi összejövetel keretében rendezett viták azt tükrözték, hogy a felvetett megfontolások nem akadályozhatják a módszer továbbfejlesztését és egyre hathatósabb alkalmazását.

I R O D A L O M

1. Abstracts of the third world congress of in vitro fertilization and embryo transfer. Helsinki, May 1984. J. of in vitro fertil and embryo transfer. 1 (1984).

2. Aitken, R. J. (1979): The hormonal control of implantation. In: Maternal recognition of pregnancy. Ciba Found. Symp. Series 64. Elsevier-Excerpta Medica-North Holland, Amsterdam, 53-83.
3. Austin, C. R. (1961): The mammalian egg. Blackwell Sci. Publ. Oxford.
4. Austin, C. R. (1973): Embryo transfer and sensitivity to teratogenesis. *Nature*, 244, 333-334.
5. Beatty, R. A. (1951): Transplantation of mouse eggs. *Nature*, 168, 995.
6. Behrman, S. J. (1971): Implantation as an immunologic phenomenon. In: Blandau, R. J. (ed.): The biology of the blastocyst. Univ. of Chicago Press, 479-494.
7. Beyer, C., Zeilmaker, G. H. (1973): Development of mouse and rat zygotes following transfer to non-synchronized rat and mouse oviducts. *J. Reprod. Fertil.*, 33, 141-143.
8. Biggers, J. D., Whitten, M. K. and Whittingham, D. G. (1971): The culture of mouse embryos *in vitro*. In: Daniel, J. C., jr. (ed.): Methods in mammalian embryology. Freeman and comp. San Francisco, 86-116.
9. Billingham, R. E. (1971): The transplantation biology of mammalian gestation. *Am. J. Obstetr. Gynecol.*, 111, 469-483.
10. Billington, W. D., Graham, C. F. and McLaren, A. (1968): Extrauterine development of mouse blastocysts cultured *in vitro* from early cleavage stages. *J. Embryol. Exp. Morphol.*, 20, 391-400.
11. Billington, W. D. (1978): Immunological interference with implantation. *Uppsala J. Med. Sci., Suppl.*, 22, 51-58.
12. Blaha, G. C. (1975): Egg transfer between old and young mammals. In: Blandau, R. J. (ed.): Aging gametes - their biology and pathology. Karger, Basel, 219-230.
13. Boot, L. M. and Mühlbock, O. (1952): Transplantations of ova in mice. *Dutch. Soc. of Physiol. and Pharmacol.*, 19, 133-136.
14. Brinster, R. L. (1963): A method for *in vitro* cultivation of mouse ova from two-cell to blastocyst. *Exp. Cell Res.*, 32, 205-208.
15. Brinster, R. L. (1965): Studies on the development of mouse embryos *in vitro*, I. The effect of osmolarity and hydrogen ion concentration. *J. Exp. Zool.*, 158, 49-58.
16. Brinster, R. L. (1965): Studies on the development of mouse embryos *in vitro*, II. The effect of energy source. *J. Exp. Zool.*, 158, 59-68.
17. Brinster, R. L. (1965): Studies on the development of mouse embryos *in vitro*, III. The effect of fixed-nitrogen source. *J. Exp. Zool.*, 158, 69-78.
18. Brinster, R. L. and Tenbroeck, J. Th. (1969): Blastocyst development of mouse pre-implantation embryos in the rabbit Fallopian tube. *J. Reprod. Fert.*, 19, 417-421.
19. Briones, H. and Beatty, R. A. (1954): Interspecific transfers of rodent eggs. *J. Exp. Zool.*, 125, 99.
20. Chambon, J. (1959): Effets comparés de l'histamine et du traumatisme en phase progestative naturelle et artificielle dans la production du déciduome chez la ratte. *C. R. Soc. Biol. (Paris)*, 153, 1468-1472.

21. Chang, M. C. (1966): Reciprocal transplantation of eggs between rabbit and ferret. *J. Exp. Zool.*, 161, 297.
22. Chang, M. C. (1968): Reciprocal insemination and egg transfer between ferrets and mink. *J. Exp. Zool.*, 168, 49-61.
23. Chang, M. C. and Pickworth, S. (1969): Egg transfer in the laboratory animal. In: Hafez, E. S. E. and Blandau, R. I. (eds): *The mammalian oviduct*. The Univ. Chicago Press, Chicago and London, 389-405.
24. Checiu, M., Amels, D., Sandor, S. and Suci, A. (1977): Contributions to the transfer of preimplantation mouse embryos into "foster-mothers". *Rev. roum. Morphol. Embryol.*, 23, 175-180.
25. Dickmann, Z. and Noyes, R. W. (1960): The fate of ova transferred into the uterus of the rat. *J. Reprod. Fertil.*, 1, 197-212.
26. Dickmann, Z. (1971): Egg transfer. In: Daniel, J. C. (ed.): *Methods in mammalian embryology*. Freeman and Comp., San Francisco, 135-145.
27. Doyle, L. L., Gates, A. H. and Noyes, R. W. (1963): Asynchronous transfer of mouse ova. *Fertil. Steril.*, 14, 215.
28. Dziuk, Ph. (1975): Embryo transfer: An experimental tool with practical applications. *Bioscience*, 25, 102.
30. Eibs, H. C. and Spielmann, H. (1977): Preimplantation embryos. II. Culture and transplantation. In: Neubert, D. et al. (eds): *Methods in prenatal toxicology*. G. Thieme, Stuttgart, 221.
31. Enders, A. C. and Schlafke, S.: A morphological analysis of the early implantation stages in the rat. *Am. J. Anat.*, 120, 185.
32. Fawcett, D. W., Wislocki, G. B. and Waldo, Ch. M. (1947): The development of mouse ova in the anterior chamber of the eye and in the abdominal cavity. *Am. J. Anat.*, 81, 413.
33. Fawcett, D. W. (1950): The development of mouse ova under the capsule of the kidney. *Anat. Record.*, 108, 71.
34. Fekete, E. (1947): Differences in the effect of uterine environment upon development in the DBA and C₅₇ Black strains of mice. *Anat. Rev.*, 98, 409.
35. Finn, C. A. (1966): The initiation of the decidual cell reaction in the uterus of the aged mouse. *J. Reprod. Fertil.*, 11, 423.
36. Finn, C. A. and Bredl, J. C. S. (1979): Studies on the development of the implantation reaction in the mouse uterus: influence of actinomycin D. *J. Reprod. Fert.*, 34, 247.
37. Finn, C. A. (1977): The implantation reaction. In: Wynn, R. M. (ed.): *Biology of the uterus*. Plenum Press, New York, 245.
38. Fisher, D. L. and Smithberg, M. (1972): Early and late effects of *in vitro* exposure of preimplantation mouse embryos to trypan blue. *Teratology*, 6, 159.
39. Fisher, D. L. and Smithberg, M. (1973): *In vitro* and *in vivo* X-irradiation of preimplantation mouse embryos. *Teratology*, 7, 57.

40. Gardner, R. L. (1968): Mouse chimerae obtained by the injection of cells into the blastocyst. *Nature*, 220, 596.
41. Gardner, R. L. and Rossant, J. (1976): Determination during embryogenesis. In: *Embryogenesis in mammals*. Ciba Found. Symp. 40. Elsevier Excerpta Med. North Holland, Amsterdam, 2—25.
42. Gardner, R. L. (1978): The relationship between cell lineage and differentiation in the early mouse embryo. In: Gehring, W. J. (ed.): *Genetic mosaics and cell differentiation*. Springer Verlag, Berlin, 205—234.
43. Garner, W. (1974): The effect of 5-bromodeoxyuridine on early mouse embryos *in vitro*. *J. Embryol. Exp. Morphol.*, 32, 849.
44. Gates, A. H. and Runner, M. (1952): Factors affecting survival of transplanted ova of the mouse. *Anat. Rec.*, 113, 555.
45. Gates, A. H. (1971): Maximizing yield and developmental uniformity of egg. In: Daniel Jr., I. C. (ed.): *Methods in mammalian embryology*. W. H. Freeman and Co., San Francisco, 64—75.
46. Glass, H. R., Calarco, P. G., Lin, P. P., Florence, J. and Jang, O. Oh. (1974): Development of the mouse blastocyst following injection with Newcastle disease virus. *Biol. Reprod.*, 10, 502.
47. Gottschewski, G. H. M. and Zimmermann, W. (1963): Auslösung von Blastopathien beim Säugetier durch Cyclophosphamid und Thalidomid. *Naturwissenschaften*, 15, 525.
48. Hertig, A. T., Rock, J., Adams, E. and Menkin, M. C. (1959): Thirty-four fertilized human ova, good, bad and indifferent from 210 women of known fertility. *Pediatrics*, 23, 202.
49. Hsu, J. C. (1973): Differentiation *in vitro* of mouse embryos to the stage of early somite. *Develop. Biol.*, 33, 403—411.
50. Hsu, J. C., Baskar, J., Stevens, L. and Rash, J. (1974): Development *in vitro* of mouse embryos from the two-cell egg stage to early somite stage. *J. Embryol. Exp. Morphol.*, 31, 225.
51. Hsu, J. C. (1978): *In vitro* development of whole mouse embryos beyond the implantation stage. In: Daniel Jr., J. C. (ed.): *Methods in mammalian reproduction*. Academic Press, London, 229—245.
52. Hsu, J. C. (1980): Embryo growth and differentiation factors in embryonic sera of mammals. *Develop. Biol.*, 76, 465.
53. Kirby, D. R. S. (1962): Reciprocal transplantation of blastocysts between rats and mice. *Nature*, 194, 785.
54. Kirby, D. R. S. (1962): The influence of the uterine environment on the development of mouse eggs. *J. Embryol. Exp. Morphol.*, 10, 496.
55. Kirby, D. R. S. (1963): The development of mouse blastocysts transplanted to the scroted and cryptorchid testis. *J. Anat.*, 97, 119.
56. Kirby, D. R. S. (1963): Development of the mouse blastocysts transplanted to the spleen. *J. Reprod. Fertil.*, 5, 1.
57. Kirby, D. R. S. (1965): The role of the uterus in the early stages of mouse development. In: *Preimplantation stages of pregnancy*. CIBA Found. Symposium. Churchill, London, 325—344.

58. Kirby, D. R. S. (1971): The transplantation of mouse eggs and trophoblast to extrauterine eggs. In: Daniel, Jr., J. C. (ed.): *Methods in mammalian embryology*. W. H. Freeman and Co., San Francisco, 146—156.
59. Lin, T. P. and Monie, I. W. (1973): The development of mouse blastocysts injected with or cultured in Trypan-blue solution. *J. Reprod. Fert.*, 32, 149—151.
60. Long, J. A. and Evans, M. H. (1922): The oestrus cycle in the rat and its associated phenomena. *Memories of the Univ. of California*, 6, 1—148.
61. Lopata, A. (1980), personal communication.
62. Marsk, L. and Larsson, K. S. (1974): A simple method for non-surgical blastocyst transfer in mice. *J. Reprod. Fert.*, 37, 393—398.
63. McLaren, A. and Michie, D. (1956): Studies on the transfer of fertilized mouse eggs to uterine foster-mothers. I. Factors affecting the implantation and survival of native and transferred eggs. *J. Exp. Biol.*, 33, 394—416.
64. McLaren, A. and Michie, D. (1959): Studies on the transfer of fertilized mouse eggs to uterine foster-mother. II. The effect of transferring large number of eggs. *J. Exp. Biol.*, 36, 40—50.
65. McLaren, A. and Tarkowski, A. K. (1963): Implantation of mouse eggs in the peritoneal cavity. *J. Reprod. Fert.*, 6, 385—392.
66. McLaren, A. (1969): Transfer of zona-free mouse eggs to uterine foster-mothers. *J. Reprod. Fert.*, 19, 341—346.
67. McLaren, A. (1970): The fate of very small litters produced by egg transfer in mice. *J. Endocrin.*, 47, 87—94.
68. McLaren, A. and Hensleigh, H. C. (1975): Culture of mammalian embryos over the implantation period. In: Balls, M. and World, A. E. (eds): *The early development of mammals*. Cambridge Univ. Press, 45—60.
69. Mintz, B. (1962): Formation of genotypically mosaic mouse embryos. *Am. Zool.*, 2, 432.
70. Mintz, E. (1967): Mammalian embryo culture. In: Wilt, F. H. and Wessels, N. K. (eds): *Methods in developmental biology*. Thomas J. Crowell Comp., New York.
71. Mintz, B. and Ilmensee, K. (1975): Normal genetically mosaic mice produced from malignant teratocarcinoma cells. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 72, 3585.
72. New, D. A. T. (1966): *The culture of vertebrate embryos*. Logos Press—Academic Press, London.
73. Nicholas, J. S. (1934): Experiments on developing rats. I. Limits of foetal regeneration; behaviour of embryonic material in abnormal environments. *Anat. Rec.*, 58, 387.
74. Nicholas, J. S. (1942): Experiments on developing rats. IV. The growth and differentiation of eggs and egg-cylinders when transplanted under the kidney capsule. *J. Exp. Zool.*, 90, 41.
75. Nicholas, J. S. (1950): Experiments on developing rats. VII. Transplantations to intestinal mucosa. *J. Exp. Zool.*, 113, 741.

76. Nilsson, O. (1974): The morphology of blastocyst implantation. *J. Reprod. Fertil.*, 39, 187.
77. Noyes, R. W. and Dickmann, Z. (1961): Survival of ova transferred into the oviduct of the rat. *Fertil. Steril.*, 12, 67.
78. Noyes, R. W., Dickmann, Z., Doyle, L. L. and Gates, A. H. (1963): Ovum transfers, synchronous and asynchronous, in the study of implantation. In: Enders, A. C. (ed.): *Delayed implantation*. The Univ. of Chicago Press, 197.
79. Runner, M. N. and Palm, J. (1953): Transplantation and survival of unfertilized ova of the mouse in relation to postovulatory age. *J. Exp. Zool.*, 124, 303.
80. Samanès, N. and Psychoyos, A. (1970): Effet de l'actinomycine-D sur le développement du déciduome chez la ratte. *C. R. Acad. Sci. (Paris)*, 271, 430.
81. Sandor, S., Checiu, M. and Fazakas-Todea, I. (1984): Embriologia și teratologia experimentală a mamiferelor de laborator. Editura Academiei R. S. România, București.
82. Shelesnyak, M. C. and Kraicer, P. F. (1963): The role of estrogen in nidation. In: Enders, C. A. (ed.): *Delayed implantation*. Univ. Chicago Press, Chicago.
83. Spielmann, H. and Eibs, H. G. (1977): Preimplantation embryos. Part. I. Laboratory equipment, preparation of media, sampling and handling of the embryos. In: Neubert, D. et al. (eds): *Methods in prenatal toxicology*. G. Thieme, Stuttgart.
84. Spielmann, H., Eibs, H. G. and Jacob-Müller, U. (1975): Cyclophosphamide treatment prior to implantation: the effects on embryonic development. In: Persaud, T. V. N. (ed.): *Advances in the study of birth defects*. II. Teratological testing. MTP Press Limited, England.
85. Steptoe, P. C. (1971): Laparoscopy recovery of preovulatory human oocytes after priming of the ovaries with gonadotrophins. *Shering Symposium on intrinsic and extrinsic factors in early mammalian development*, Venice, 1970. Pergamon Press, Vieweg—Oxford etc. 121.
86. Tachi, S. and Tachi, C. (1975): Ultrastructural studies on maternal-embryonic cell interaction during experimentally induced implantation of rat blastocysts to endometrium of the mouse. *Dev. Biol.*, 68, 203.
87. Talbert, G. B. and Krohn, P. L. (1966): Effect of maternal age on viability of ova and uterine support of pregnancy in mice. *J. Reprod. Fert.*, 11, 399.
88. Tarkowski, A. K. (1959): Experiments on the development of isolated blastomeres of mouse eggs. *Nature*, 184, 1286.
89. Tarkowski, A. K. (1959): Experiments on the transplantation of ova in mice. *Acta Theriologica*, 2, 251.
90. Tarkowski, A. K. (1961): Mouse chimaeras developed from fused eggs. *Nature*, 190, 857.
91. Tarkowski, A. K. (1962): Inter-specific transfers of eggs between rat and mouse. *J. Embryol. Exp. Morphol.*, 10, 476.

92. Tsunoda, Y., Iritam, A. and Nishimura, Y. (1978): Effect of hormonal treatments on the rabbit embryos transferred into ovariectomized rat uterus. *Jap. J. Zootechn. Sci.*, 49, 11.
93. Weitlauf, H. M. (1969): Temporal changes in protein synthesis by mouse blastocysts transferred to ovariectomized recipients. *J. Exp. Zool.*, 171, 481.
94. Whitten, W. K. (1957): Culture of tubal ova. *Nature*, 179, 1081.
95. Whitten, W. K. (1971): Nutrient requirements for the culture of pre-implantation embryos in vitro. In: Raspe, G. (ed.): *Advances in the Bioscience* 6. Pergamon Press Vieweg.
96. Witschi, E. (1971): Teratogenic effects from overripeness of the egg. In: Fraser, F. C. and McKusick, V. A. (eds): *Congenital malformations*. Proc. IIIrd Intern. Conf. the Hague. Exc. Medica, Amsterdam—New York.

DAGANATKELTŐ GENETIKAI SZABÁLYOZÓ-KÖRÖK
(CELLULÁRIS ONKOGÉNEK)

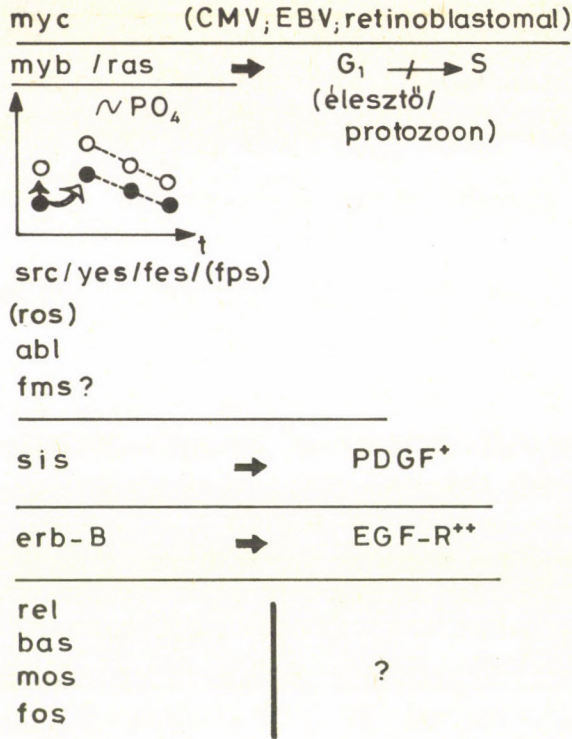
BERENCSEI GYÖRGY

Semmelweis Orvostudományi Egyetem Mikrobiológiai Intézete, Budapest

Kulcsszavak: áttekintés, celluláris onkogének, onkogén-körök, vírusok

Az akut transzformáló retrovírusok többsége önálló szaporodásra képtelen RNS tumorvírus, amely tumorkeltő gént, virális-onkogént (v-onc gént) hordoz [6, 12, 20, 21, 22]. Ez megfelelő kísérleti állatban a beoltást követő három hónapon belül specifikus daganatot okoz az állatok több mint 2/3 részében. A molekuláris biológia módszertanának a fejlődése, valamint a géntechnológia kialakulása lehetővé tette a tumorvírusok onkogén RNS-szakaszának DNS formába történő, in vitro megvalósított, lemásolását (ún. komplementer-, ill. c-DNS), majd baktériumokban végrehajtott megsokszorozását (klónozását). A 80-as években az itatós- vagy szűrőpapír-hibridizáció (blot-hibridizáció) érzékenysége olyan nagy lett, hogy segítségével egyetlen, 100–500 bázispár hosszúságú DNS-darabot ki lehet mutatni az emlőssejtek DNS-ében. Valamennyi eddig vizsgált v-onc génről kiderült, hogy a gazdaállatok sejtjeiben nukleotidsorrend-rokonságot mutató celluláris megfelelőik vannak. Normális sejtekben csak egy-egy ilyen, v-onc-rokonságot mutató celluláris onkogén, protoonkogén, ill. c-onc gén mutatható ki az esetek zömében. A v-onc és c-onc gének igen eltérőek lehetnek a nukleinsavak szintjén, azonban az általuk kódolt polipeptidok jelentős szakaszai azonosak. Számos közvetett, és néhány közvetlen bizonyíték alapján ma elfogadott tény, hogy a vírusok daganatkeltő génei, a v-onc gének, korábban a gazdasejtből rekombináció révén kiemelt, majd a daganatkeletkezés folyamata során a fertőzött sejtekbe rossz kromoszómába, ill. módosítva visszaültetett c-onc gének, azaz normális gazdasejt-gének leszármazottai [5, 7, 11, 12, 14, 16, 21, 23, 26, 27, 29, 32, 33, 34].

A bizonyítás fordított irányban is sikeres volt. Mind természetes, mind kísérleti daganatok DNS-töredékeit normálisan szaporodó 3T3 sejtekbe juttatva, daganatos transzformációt lehet létrehozni [5, 8, 24, 33], és a daganatos transzformációért a leírt, v-onc rokonság alapján kimutatható, cellulá-



1. ábra. Az onc gének néhány ismert jellemzője.

A funkcionális szempontból különböző öt csoportot vízszintes vonalak választják el. (A hatodik, függőleges vonallal jelzett csoport tagjait még nem lehetett 1984 májusáig besorolni.) Az egymás mellé írt onc-gének azonos celluláris oncogén szekvenciák előfordulását mutatják különböző akut transzformáló retrovírusokban, pl. a src/yes/fes/fps sor azt jelenti, hogy a tirozin-kináz gén csirkéből (c-src, c-yes és c-fps), valamint macskából (c-fes) összesen négy különböző defektív vírusba került bele v-oncogén formájában. A szögletes zárójelek a myc gén különleges előfordulását jelölik: CMV — humán citomegalovírus, EBV — Epstein-Barr-vírus [23, 26, 31]. A vastag nyilak a c-onc gének feltételezett funkciójára utalnak. A myb-ras csoport tagjainak még élesztőgombák sejtjeiben is vannak homológjai, és ezek pontmutációi gátolják az élesztősejtben a G_1 fázisból történő átmenetet az S fázisba a sejtoszlás során [25]. A v-ras termékéről azt is kimutatták, hogy a szerint képes foszforilálni (K. Moelling et. al., Nature (London) 312) szemben a következő csoport tagjaival (src — fms), amelyek kivétel nélkül tirozin-specifikus proteinkináz aktivitással rendelkeznek. Ehhez a csoporthoz egy ábrarészletet illesztettem, amelynek PO_4 a jelzése. Az ordináta a fehérjéhez kötött foszforil csoportok összenergiátartalmát mutatja transzformált (üres karikák) és normális (fekete pontok) sejtben. Az abszcissza a sejtciklus (t) során bekövetkező változást mutatja, amely a hipotézis szerint protein-protein foszforiláció során következik be. A transzformáció megemelheti az összfoszforiláció szintjét, ami önmagában elég lehet a sejtciklus teljes megzavarásához [6, 11, 12, 19, 20, 21, 22, 33]. Zárójelek: a v-onkogén termékének sejtmembránhoz való viszonya ismeretlen. Kérdőjelek: a szekvenciahomológia-vizsgálatok folyamatban vannak PDGF^x vélemezke eredetű növekedési faktor. EGF-R: bőr-növekedési faktor receptora

ris onkogének felelősek az esetek egy részében. Ez azért említésre méltó, mert az in vitro transzformációhoz használt DNS-t olyan tumorokból tisztították, amelyeket kémiai karcinogenezis segítségével mesterségesen hoztak létre, vagy természetes körülmények között alakultak ki. Mindkét esetben valószínűtlen vagy kizárható a megfelelő virális onc gént hordozó retrovírus kórokozó szerepe [5, 6, 10, 11, 24, 29, 33].

A CELLULÁRIS ONC GÉNEK BIOLÓGIAI SZEREPE ÉS LEHETSÉGES SZÁMA

Már a múlt század végén is, majd századunkban újból és újból a sejtosztást szabályozó mechanizmusok, majd gének hibás működését tartották a rák okának. Még 10 évvel ezelőtt is a DNS replikáció szabályozásának közvetlen zavarait keresték a különböző papovavírus-modellek segítségével. A vírusmodellek, valamint a c-onc gének egyaránt arra utalnak, hogy a daganatok génexpressziós hibák következtében kialakult szabályozási zavarok [2, 4, 5, 6, 7, 9, 10, 11, 13, 16, 20, 21, 23, 26, 28, 29, 30, 35].

Az 1. ábra összefoglalja a 16 legrégebben ismert onkogén főbb jellemzőit. A myc, myb, ras, src stb. rövidítések különböző retrovírusok által hordozott akut transzformáló géneket jelentenek, és részben utalnak a kialakí-

Figure 1. Certain recognised characteristics of onc-genes. Horizontal lines are separating different functional groups of oncogenes. (The lowest one, labeled with vertical line, is an exceptional group, which cannot be specified by May, 1984.) Onc-genes listed one by one are indicating the occurrence of homologous c-onc-genes in different acute transforming retroviruses. Onc-genes have been specified on the basis of the defective viruses carrying them (v-onc genes) See text, and reference no. 21. Peculiar occurrence of myc is shown by square brackets. CMV: human cytomegalovirus [31]; EBV: Epstein-Barr-virus [23, 26]. Thick arrows are indicating the supposed function of onc-genes. Mutation of the "myb/ras"-homologue in yeast is inhibiting G1 → S transition [25], nevertheless the latter has been shown to possess serin + tryptophan phosphorylating activity (K. Moelling et al. in the press, Nature (London) 312) in contrast to tyrosine-specific phosphorylating gene-products (src — fms). The insert labeled by PO_4 is indicating hypothetic pathways of protein-linked macroerg-phosphate residues in transformed (open circles) and untransformed (black circles) cells. Ordinate: total energy level of protein-bound PO_4 ; abscisse: subsequent phosphorylations (protein to protein) during the cell-cycle (t). Transformation may result in the overall increase of phosphorylation level, which may lead to continuous dysorganization of the cell cycle [6, 11, 12, 19, 20, 21, 22, 33]. Brackets: the relationship of v-onc gene products is unclear in connection with the cellular membranes. Question mark: sequence relationships under investigation. PDGF^x: platelet-derived growth factor. EGF-R^{**}: receptor of epidermal growth factor, homologous to the v-onc-B of avian erythroblastosis virus oncogene

tott daganat típusára és az állatfajra, amelyet a megfelelő hordozó vírus meg tud fertőzni. Pl. myc — myelocytomatosis; sis — simian és macska sarcoma; ras — rat sarcoma stb. Kis számú olyan celluláris szabályozó gén létezik, amely betöltheti a c-onc funkcióját, mert a 16 elsőnek kimutatott virális onkogén közül 6 csak két celluláris onkogén különféle változata. A myb csirkéből, a ras patkányból olyan ősi gén változatai, amelyek hasonlóságot (DNS-nukleotid-sorrend homológiát) mutatnak élesztőgombák, valamint protozoonok génjeihez is. Sikerült olyan hőérzékeny élesztő-mutánsokat kiválasztani (pl. CDC 4/36 klón), amelyekben a myb/ras gének őse károsodik magas hőmérsékleten, és ennek a sejtosztódást megelőző DNS-replikáció elmaradása a következménye (1. ábra; [7, 9, 21, 25, 33]).

A src, yes, fps (szárnyasokból) és a fes (macskából) egyetlen protein kináz emzimet kódoló gén különböző változatai. A protein kinázok, a sejtnyagcsere szabályozásában részt vevő, fehérjéket foszforiláló enzimek, amelyeknek a többsége szerint és treonint foszforilál a normális sejtekben. Az első szerin-specifikus protein kinázt csak 1984-ben fedezték fel a c-ras, ill. a v-ras onkogének által kódolt fehérjék vizsgálata során. Az 1. ábrán feltüntetett src — fms csoportba tartozó valamennyi onkogén olyan fehérjéket kódol, amelyek a normális sejtekben ritkábban előforduló tirozin-specifikus foszforiláló aktivitással rendelkeznek. Az abl és ros tirozin kináz gének bizonyítottan különböznek a bekezdés elején említett, közös celluláris onkogénből származó src — yes — fps — fes génektől. Az fms gén jelzése mellett a kérdőjel azt mutatja, hogy a kézirat összeállításakor, 1984-ben ennek a rokonságát még nem sikerült valamennyi ismert onkogénnel megvizsgálni [1, 6, 12, 20, 21, 22].

Számos munkacsoport éveken át próbálkozott azzal, hogy megtalálja azt a célfehérjét, amely a különböző daganatos sejtekben foszforilált állapotban van. A daganatos transzformációval oki összefüggésben lévő foszforilált fehérjét azonban nem sikerült kimutatni [6]. 1. A foszforilált és nem foszforilált fehérjék aránya az, ami szabályozó szereppel rendelkezik. 2. A tirozinhoz kötött foszforil csoport megtartja makroerg jellegét, és a szerző saját elképzelése szerint képes lehet további fehérjéknek átadni a foszforil csoportot (a lépcsőzetes másod-, harmad- stb. szintű foszforiláláshoz ezért nem szükséges újabb trifoszfát), ami egy sor fehérje fokozatos aktiválása, majd inaktíválódása révén szabályozható. Az 1. ábrába illesztett görbék ilyen energiaszint-változásokat szemléltetnek (ordináta) a sejtciklussal kapcsolatban (t). Ha az onkogén által kódolt protein kináz megemeli a kiindulási

energiatartalmat (üres körök), az energia-gazdag kötésektől függő enziminaktiválódás lehetetlenné válik a hipotézis szerint.

Kiemelt jelentősége van a myc típusú onkogéneknek, amelyet az 1. ábra legfelső sorában tüntettem fel [15, 16, 23, 26, 27, 28, 31, 32]. A myc nukleotidsorrendek többszörösen előfordulnak a humán cytomegalovírus [31], valamint a hasonlóképpen daganatkeltő Epstein-Barr-vírus [14, 33] DNS-ében. Működése fokozott a retinoblasztoma sejtekben, valamint akut limfoid leukémiák sejtjeiben. Önmagában azonban nem képes daganatos transzformációt létrehozni. Működési szempontból hasonló az adenovírusok Ela [28] génjeihez, vagy a papovavírusok nagy T-fehérjéjéhez (Large T), tehát "örökéletűvé teszik a sejteket szövettényészetben" [4, 13, 33], ill. "megakadályozzák a sejtek öregedését", immortalizálják a sejteket. A myc gén nagy molekulatömegű fehérjetermékének a vizsgálatában elért eredményekről a Magyar Mikrobiológiai Társaság 1984. évi nagygyűlésén több munkacsoport is beszámolt (Nagy K. és mtsai; D. Tóth F. és mtsai).

A számítógépek egyre szélesebb körű alkalmazásának köszönhető, hogy az intercelluláris regulációban szerepet játszó növekedési faktorokat (PDGF), valamint fehérjereceptorait kódoló génekről (EGF-R) is kiderült, hogy onkogének lehetnek. A celluláris onkogének kulcsfontosságú szabályozógének, amelyeknek a száma korlátozott, és az intracelluláris regulációban legalább három eltérő funkcióval rendelkezhetnek, de a sejtközötti regulációban részt vevő gének is lehetnek celluláris onkogének. Kiemelést érdemel a c-onc gének jelenléte DNS-vírusok genomjában, valamint a c-myc gén fokozott működése retinoblasztómában és emberi leukémiákban, ami felveti annak a lehetőségét, hogy az onkogének között bonyolult kölcsönhatások lehetségesek [2, 3, 13, 15, 18, 20, 23, 30].

CELLULÁRIS ONKOGÉNEK KÖLCSÖNHATÁSAI

A papovavírusok, valamint adenovírusok transzformáló hatását csak két-két genetikai egység egyidejű működése képes létrehozni. A korábban említett Ela, ill. nagy-T immortalizálja a sejteket, az Elb és a papovavírusok "small-T" termékei felelősek a megváltozott fenotípus kialakításáért. A myc génnel kapcsolatban már szóba került ennek hasonlósága az immortalizációt kiváltó [4, 16, 28, 33] egységekhez.

A kísérleti adatok arra utalnak, hogy önmagukban a ras/myb, valamint a src/yes/fes/fps gének sem tudnak daganatos sejttranszformációt létrehozni, de képessé válnak transzformációra, amennyiben a myc génnel együtt, vagy a-

kár DNS-vírus onkogénnel együtt kerülnek be a célsejtekbe. A myb/ras gének, amelyek minden tizedik emberi urogenitális rákban fokozott működést mutatnak, valamint a tirozin-specifikus protein-kináz gének valódi sejtttranszformációra képesek, hasonlóan az adenovírusok Elb génjeihez, ill. az SV40-polyoma csoport "small-T" génjéhez. Myc/src együttműködést acut T-sejtes leukémiában a közelmúltban hazánkban is kimutattak (D. Tóth és mtsai [2, 20, 28, 33]).

Az intercelluláris regulációban szerepet játszó onc gének is szoros kapcsolatban vannak az immortalizáló, ill. transzformáló génekkel. A vérlemezké növekedési faktor (PDGF) fokozza a kezelt sejtekben a myc gén expresszióját. Az epidermális növekedési factor receptor fehérjéje pedig (EGF-R) maga is foszforilálódik. Olyan gén-kölcsönhatás mechanizmusok feltételezhetők tehát, hogy PDGF → myc → ras vagy PDGF → myc → src.

A kérdés valóságos bonyolultságára a humán retinoblasztoma példája segítségével lehet rámutatni.

A retinoblasztóma [3, 15, 18] recesszív allélek öröklésével bizonyított összefüggésben jelenik meg emberben. Röviddel azután, hogy az öröklési tényező szerepe bizonyítást nyert, F. L. Graham humán 12-es típusú adenovírus onkogénnel kémcsőben, majd állatkísérletekben retinoblasztómákat tudott indukálni [3, 18]. Végül 1984-ben W.-H. Lee és mtsai [15] kimutatták, hogy mind a retinoblasztómákban, mind a neuroblasztómákban megsokszorozódott (amplifikálódott) a myc gén, és fokozott a működése is. Az eredmények rámutatnak a celluláris onkogének lehetséges kapcsolatára az öröklött tényezőkkel és DNS-vírusok szerepével. A hipotézis szerint az adenovírus szerepe a celluláris myc megsokszorozódásának (amplifikációjának) a megindítása. Az adenovírus fertőzés hatását azonban egy gátló gén képes megakadályozni, és ez a funkció recesszíve esik ki, mert amíg az egyik allél működik, a myc-amplifikációt képes meggátolni. Adenovírus fertőzés nélkül viszont sem a myc-amplifikáció, sem a daganat nem jön létre. Így az öröklött represszorhiánynak és adenovírus fertőzésnek együtt kell jelen lenni, hogy a c-myc által immortalizált sejtek keletkezzenek, és a transzformált állapot kialakulását további, ismeretlen lépések közvetítésével lehetővé tegyék [3, 15, 18].

A gátló gazdasejt gének szerepére egyre több kísérleti adat mutat, a "retinoblasztóma-érzékenység" génen kívül is. Src gént hordozó retrovírussal pl. csak bizonyos életkornál idősebb csirkeembriókat lehet transzformálni [7]. A jövőben összeállításra kerül onkogén szabályozó-körök tehát szomatikus mutációkat és amplifikációt okozó mechanizmusokból, károsodott gátló

génekből, inter- és intracelluláris szereppel bíró c-onc génekből fognak felépülni [20, 21, 28, 29, 30, 32, 33].

Kérdés, hogy a biológia mai szintjén lehet-e a szomatikus mutáció által sértett géneket korrigálni, ill. a c-onc fokozott expresszióját megelőzni, vagy gyógyítani?

ÖSSZEFOGLALÁS

A biokémia, géntechnológia és mikrobiológia forradalma lehetővé tette az elmúlt 10 év során olyan intracelluláris, valamint különböző szintű intercelluláris folyamatokat szabályozó gének (celluláris onkogének) azonosítását, amelyek kulcsszerepet játszanak a daganatok kialakulásában. Különböző megfontolások alapján 30–50 eukarióta gén tartozik a celluláris onc-gének csoportjába. Ezek különböznek evolúciós eredet szempontjából, és vírusfertőzés vagy mutagén hatásokra bekövetkezhetik két vagy több celluláris onkogén fokozott, folyamatos működése, amely daganatos fenotípust eredményez. Az ilyen "genetikai szabályozó-köröket" a jövőben valószínűleg a biokémiai anyagcsereutakhoz hasonlóan lehet majd jellemezni, ill. ábrázolni (Weinberg, R. A., [33]).

IRODALOM

1. Blenis, J. and Erikson, R. L. (1984): Phosphorylation of the ribosomal protein $s6$ is elevated in cells transformed by a variety of tumor viruses. *J. Virol.*, 50, 966–969.
2. Brickell, P. M., Latchman, D. S., Murphy, D., Willison, K. and Rigby, P. W. J. (1983): Activation of a Qa/Ia class I major histocompatibility antigen gene is a general feature of oncogenesis in the mouse. *Nature*, 306, 756–760.
3. Byrd, P., Brown, K. W. and Gallimore, P. H. (1982): Malignant transformation of human embryo retinoblasts by cloned adenovirus 12 DNA. *Nature*, 298, 69–71.
4. Chandrasekaran, K., Mora, P. T., Nagarajan, L. and Andreson, W. B. (1982): The amount of a specific cellular protein (p53) is a correlate of differentiation in embryonal carcinoma cells. *J. Cell. Physiol.*, 113, 134–140.
5. Cooper, G. M. (1982): Cellular transforming genes. *Science*, 218, 801–806.
6. Cooper, J. A. and Hunter, J. (1983): Regulation of cell growth and transformation by tyrosine-specific protein kinases: The search for important cellular substrate proteins. *Curr. Topics Microbiol. Immunol.*, 107, 125–161.

7. Dolberg, D. S. and Bissell, M. J. (1984): Inability of Rous sarcoma virus to cause sarcomas in the avian embryo. *Nature*, 309, 552-556.
8. Fujita, J., Yoshida, O., Yuasa, Y., Rhim, J. S., Hatana-ka, M. and Aaronson, S. A. (1984): Ha-ras oncogenes are activated by somatic alterations in human urinary tract tumours. *Nature*, 309, 464-466.
9. Gazarayan, K. G., Nabirochkin, S. D., Tatosyan, A. G., Shakhbazyan, A. K. and Shibanova, E. N. (1984): Genetic effects of injection of RSV DNA into polar plasm of early D. melanogaster embryos. *Nature*, 311, 392-394.
10. Groff, D. E. and Lancaster, W. S. (1984): Evidence that integration of virus DNA may not be necessary for maintenance of cell transformation. *Progr. med. Virol*, 29, Karger A. G., Basel.
11. Hayward, W. S., Neel, B. G. and Astrin, S. M. (1981): Activation of cellular onc gene by promoter insertion in ALV-induced lymphoid leukosis. *Nature*, 290, 475-480.
12. Krueger, J. G., Garber, E. A. and Goldberg, A. R. (1983): Subcellular localization of pp60^{SRC} in RSV-transformed cells. *Curr. Topics Microbiol. Immunol.*, 107, 51-124.
13. Lane, M.-A., Sainten, A. and Cooper, G. M. (1982): Stage-specific transforming genes of human and mouse B- and T-lymphocyte neoplasms. *Cell*, 28, 873-880.
14. Leder, P., Battey, J., Lenoir, G., Moulding, C., Murphy, W., Potter, H., Stewart, T. and Taub, R. (1983): Translocations among antibody genes in human cancer. *Science*, 222, 765-770.
15. Lee, W.-H., Murphree, A. L. and Benedict, W. F. (1984): Expression and amplification of the N-myc gene in primary retinoblastoma. *Nature*, 309, 458-460.
16. Little, C. D., Nau, M. M., Corney, D. N., Gazdar, A. F. and Minna, J. D. (1984): Amplification and expression of the c-myc oncogene in human lung cancer cell lines. *Nature*, 306, 194-195.
17. Marquardt, H., Hunkapiller, M. W., Hood, L. E. and Todaro, G. J. (1984): Rat transforming growth factor type 1: Structure and relation to epidermal growth factor. *Science*, 223, 1079-1082.
18. Mukai, N., Kalter, S. S., Cummins, L. B., Matthews, V. A., Nishida, T. and Nakajima, T. (1980): Retinal tumours induced in the baboon by human adenovirus 12. *Science*, 210, 1023-1025.
19. Mundy, G. R., Ibotson, K. J., D'Souza, S. M., Jacobs, J. W. and Martin, T. J. (1984): The hypercalcemia of cancer. Clinical implications and pathogenic mechanisms. *N. Engl. J. Med. Surg.*, 310, 1718-1727.
20. McPhail, L. C., Clayton, C. C. and Snyderman, R. (1984): Potential second messenger role for unsaturated fatty acids: Activation of Ca²⁺-dependent protein kinase. *Science*, 224, 622-624.
21. Müller, R. and Verma, I. M. (1984): Expression of cellular oncogenes. *Curr. Topics Microbiol. Immunol.*, 112, 73-115.
22. Neil, J. C. (1983): Defective Avian sarcoma viruses. *Curr. Topics Microbiol. Immunol.*, 103, 51-74.

23. Nowel, P., Finan, J., Dalla-Favera, R., Gallo, R. C., Ar-Rushdi, A., Romanczuk, H., Selden, J. R., Emanuel, B. S., Rovera, G. and Croce, C. M. (1983): Association of amplified oncogene c-myc with an abnormally banded chromosome 8 in a human leukemia cell line. *Nature*, 306, 494-497.
24. Parada, L. F., Tabin, C. J., Shih, C. and Weinberg, R. A. (1982): Human EJ bladder carcinoma oncogene is homologue of Harvey sarcoma virus ras gene. *Nature*, 297, 474-478.
25. Peterson, T. A., Yochem, J., Byers, B., Nunn, M. F., Duesberg, P. H., Doolittle, R. F. and Reed, S. I. (1984): A relationship between yeast cell cycle genes CDC4 and CDC36 and the ets sequence of oncogenic virus E26. *Nature*, 309, 556-558.
26. Rabbits, T. H., Hamlyn, P. H. and Baer, R. (1983): Altered nucleotide sequences of translocated c-myc gene in Burkitt lymphoma. *Nature*, 306, 760-763.
27. Rabbits, T. H., Forster, A., Hamlyn, P. and Baer, R. (1984): Effect of somatic mutation within translocated c-myc genes in Burkitt's lymphoma. *Nature*, 309, 592-597.
28. Ralston, R. and Bishop, J. M. (1983): The protein products of the myc and myb oncogenes and adenovirus Ela are structurally related. *Nature*, 306, 803-806.
29. Reitsma, P. H., Rothberg, P. G., Astrin, S. M., Trial, J., Bar-Sharit, Z., Hall, A., Teitelbaum, S. L. and Kahn, A. J. (1983): Regulation of myc gene expression in HL60 leukemia cells by a vitamin D metabolite. *Nature*, 306, 492-494.
30. Ringold, G. M. (1983): Regulation of mouse mammary tumor virus gene expression by glucocorticoid hormones. *Curr. Topics Microbiol. Immunol.*, 106, 79-103.
31. Spector, D. H. and Spector, S. A. (1984): The oncogenic potential of human cytomegalovirus. *Progr. med. Virol.*, 29, Karger A. G., Basel, 45-76.
32. Sümegi, J., Spira, J., Bazin, H., Szpirer, J., Levan, G. and Klein, G. (1983): Rat c-myc oncogene is located on chromosome 7 and rearranges in immunocytomas with t (6:7) chromosomal translocation. *Nature*, 306, 497-498.
33. Weinberg, R. A. (1984): Cellular oncogenes. *TIBS*, 131-133.
34. Xu, Y.-h., Ishii, S., Clark, A. J. L., Sullivan, M., Wilson, R. K., Ma, D. P., Roe, B. A., Merlino, G. T. and Pastan, I. (1984): Human epidermal growth factor receptor cDNA is homologous to a variety of RNAs overproduced in A431 carcinoma cells. *Nature*, 309, 806-810.
35. Zavada, J. and Huang, A. S. (1984): Further characterization of proteins assembled by VSV from human tumor cells. *Virology*, 138, 16-25.

ONCOGENIC REGULATOR-GENE CYCLES (CELLULAR ONCOGENES)

Berencsi, Gy.

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

The revolution of biochemistry, biotechnology and microbiology resulted in the identification of regulatory genes of intra, and intercellular processes (cellular oncogenes), which have been shown to play key-roles in the development of tumour-specific phenotypes. The number of cellular onc-genes of different evolutionary origin may be estimated to be between 30 and 50. Due to mutations, or upon virus-infection enhanced expression and/or amplification of two or more cellular oncogenes may be stabilized resulting in the continuous appearance of cancer-specific phenotypes. Such "oncogenic regulator-gene cycles" will probably be characterized, and delineated in the future similar to the metabolic pathways in biochemistry (Weinberg, R. A.: TIBS, 131—133, 1984).

AZ ELMÉLETI ÖKOLÓGIA (EGY LEHETSÉGES) MEGALAPOZÁSÁNAK STRATÉGIÁJA

TÓTHMÉRÉSZ BÉLA

Kossuth Lajos Tudományegyetem Növényteni Tanszéke, Debrecen

Kulcsszavak: tudományos ismeretek fejlődése, általánosított niche-elmélet, Riemann-geometria, differenciálható sokaság, vektormező

BEVEZETÉS

A dolgozat céljának körvonalazása

Az ökológia az elmúlt évtizedben rohamosan fejlődött. Ez a tendencia ma is tart. Éppen a gyors fejlődésből adódik a vita, mi is az ökológia és mi vizsgálatának tárgya [10, 11, 18]. Hasonlóképpen adódó kérdés, hogyan lehetne a modern ökológiát egységes elméleti alapokra helyezni. Ez utóbbi kérdéssel foglalkozik a dolgozat. Az ökológia egységes elméleti megalapozásának eszközéül a niche-elméletet javasoljuk. Felvetjük egy általánosított niche-elmélet konstruálásának lehetőségét, szólunk továbbá a niche-elmélet és az ökológia, ill. az ökológia és a populációgenetika viszonyáról.

Egy folyamatról, mely a jelen dolgozatban is hat

Kant szerint minden tudományban annyi a tudomány, amennyi benne a matematika. Nyilvánvaló, egyre szélesebb körben is rohamosan terjed korunkban az "ismeretek matematizálása". S legalább ugyanilyen iramban fertőz — a biológiában — ennek a meglehetősen káros, patológiás formája, melyet — leggyakrabban — biometria címszó alatt akarnak rásózni boldog-boldogtalanra. (Nem tévesztendő ez össze a megfelelő helyen alkalmazott, s így feltétlenül szükséges matematikai ismeretekkel.)

Létezik ezzel ellentétes felfogás is, azoké, akik a biológiát féltik a matematikától. Úgy vélik, a problémák biológiai szenzitivitása csökken a matematikai apparátus alkalmazásával. A helyzet az, amit a továbbiakban is világosan kell látnunk, hogy a biológia mint diszciplína specifitása nem vész el a matematizáltság fokának növelésével (mint ahogy a matematizáltság növelése sem mindig jelenti a tudományosabbá válást).

Mindezekkel együtt is nyilvánvaló, hogy a matematikának soha ilyen vezető szerep és tekintély nem jutott, mint korunkban.

A TUDOMÁNYOS MEGISMERÉS NÉHÁNY SAJÁTSÁGÁNAK ELEMZÉSE A CIKK TÁRGYÁVAL ÖSSZEFÜGGÉSBEN

Némi tudománytörténeti-tudományelméleti vizsgálódás

A tudomány bizonyosfajta specifikus tulajdonságokkal bíró társadalmi intézmény [2, 6]. Mint ilyet, a tudományt is objektív belső fejlődési törvényszerűségekkel jellemezhetjük [7, 13]. Azon túlmenően, hogy ez a kijelentés nagyon triviálisnak tűnik, az a helyzet, hogy rendszerint mégsem vesszük tudomásul a belőle adódó következményeket. Erre jó példa a következő:

Kalandozás a tudománypolitika útvesztőiben

Egyáltalán nem ritkaság, hogy valamilyen műszaki feladatot úgy próbálnak megoldani, hogy több pénzt és nagyobb "kutatóállományt" fordítanak rá. Mindezek ellenére mégsem következik be a kívánt eredmény. Nem is következhet be, mert hiányzik a megfelelő elméleti alap, amely lehetővé tenné a várt műszaki megoldást, nincs meg a matematikai apparátus, hiányoznak azok a berendezések, melyek nélkül nem lehet lefolytatni az előzetes vizsgálatokat sem. Nyilvánvaló, a tudomány egyáltalán nem követi magától egyértelműen a tetszőleges külső hatásokat.

S ha a fentieket végiggondolva a műszaki feladatok szót pl. környezetvédelmi kérdésekre vagy ökológiai problémákra cseréljük ki, akkor már nem is áll olyan messze tőlünk a fenti példa. Hiszen az ökológiai kutatásnak is növekvő számú és fontosságú kérdésre kellene választ adni, ami megfelelően hatékony és egységes, fogalmilag tisztázott elméleti alap nélkül aligha lesz lehetséges (még olyan hatalmas és jól kidolgozott matematikai apparátussal sem, mint amelyet pl. Gurmana használ [8]).

Fejtegetés a tudományos ismeretek fejlődéséről

Ha a tudományt fejlődő ismeretek rendszerének tekintjük, akkor a mai és a múltbeli tudomány olyan rendszerként áll előttünk, melynek megvannak a maga általános, alapvető strukturális törvényszerűségei és fejlődéstörvényei. E törvényszerűségek körében megfigyelhetjük a tudományos ismeretek extenzív és intenzív fejlődésének váltakozását [2, 6]. Az intenzív fejlődésre a spe-

cializálódási tendencia jellemző. Nem kétséges, hogy a modern tudomány rendszere elképzelhetetlen specialisták nélkül. Ha problematikus szituáció alakul ki, akkor a szűk szakosodás nem segíti a megoldást. A problematikus szituációk elemzése azt mutatja, hogy megoldásuk legfontosabb, döntő eszköze a tudás egységének kutatása [2]. Nyilvánvalóan ezt az utat kell követnünk az elméleti ökológia rendszerének felépítésekor is. S ami még mintegy tudománytörténetileg is hangsúlyozza ezt a tényt, az az, hogy az ökológia már létrejöttékor is mind céljait, mind eszközeit tekintve alapvetően szintetizáló tudomány volt. Bár ez (az adott történeti kontextus figyelembevételével érthetően) eklekticista módon valósult meg.

Az nem kétséges, hogy a tudomány egységének, az adott tudományterület egységes elméleti alapjának kutatása alapvető fontosságú.

A fejlődés tendenciái

Magának a megismerésnek vannak olyan objektív fejlődéstörvényei, melyek nem függenek annak konkrét tartalmától. Az ismeretek fejlődését megszabó törvények egyik legfontosabbika az, hogy ismereteink mindig a formalizáció felé haladnak, azaz fejlődésük tendenciája formalizált rendszer kialakulására irányul. A fenti "formalizált rendszer" kifejezés tisztázott fogalmi alapokra épülő matematikai apparátust jelöl. Napjainkban pedig lényegesen változik a matematika szerepe a tudományban. Kutatási segédeszközből új törvényszerűségek megismerésének, tudományos hipotézisek pontos megfogalmazásának és új tudományos elméletek felépítésének termékeny módszerévé válik. A matematika fejlődése erősíti a modern természettudományos ismeretek egységét és összefüggéseit, mélyebb és adekvátabb visszatükrözési formákat alakít ki.

A tudomány fejlődésének klasszikus korszakában gyakran annak hatására vezettek be új fogalmakat, összetevőket, hogy bizonyos idealizációk alkalmazásával vizsgálták a kísérleti adatokat [2, 22]. A tudományos ismeretek fejlődésének modern szakaszában egészen más kép figyelhető meg. Sok esetben az elmélet kezdi megszabni a tudományos kutatás empirikus részének feltételeit, rámutatva, hogy milyen irányba kell keresni az új törvényszerűségeket, milyen új objektumoknak és folyamatoknak kell lenniük a természetben s milyen új tulajdonságokkal kell rendelkezniük. Ez azon a felismerésen alapszik, hogy a kutatás nem a kísérleten alapul, hanem az elméleten, ill. a kísérlet célját és "szerkezetét" megszabó hipotézisen. (Sokszor ennek fel nem ismeréséből adódóan nem tudjuk megfelelően használni azt a tekintélyes mennyiségű empiriát, melyet az eddigi eklekticista ökológiai kutatás már felhalmozott.)

A modern tudományban az elmélet ilyen megelőző funkciójában két tényező játszik fontos szerepet: egyrészt az elgondolt kísérletek széles körű alkalmazása és a tudományos elemzésben alkalmazott modellrendszerek tökéletesítése; másrészt a tudományos elméletek formalizációjának viszonylag önálló vizsgálata.

VÁLTOZATOK EGY TÉMÁRA

Mint a fejezetcím is jelzi, alább a már a dolgozat címében is ígért stratégia következik. Azonban ez többszörösen nyert megfogalmazást. Ezek alternatív formái, megfogalmazásai egy és ugyanazon célnak, melyek egymásra épülnek a verbális megfogalmazás felől haladva a matematikai felé.

Stratégia I.

Az ökológia elméleti kérdéseit tekintve, a fenti követelményeket figyelembe véve a következőket állíthatjuk: Szükség van olyan megfelelően absztrakt és ebből következően elegendően általános matematikai alapra, melynek révén lehetségessé válik az ökológia jelenségeinek egységes tárgyalása. Ilyen elméletnek egy megfelelően absztrakt térelmélet tűnik.

A feladat a következőképpen is fogalmazható: az immár meglévő, régóta alkalmazott gondolkodási formákat kell összegezni, általánosítani és magasabb szintre emelni és az ehhez szükséges fogalmi-matematikai konstrukciókat megkeresni, megalkotni. Tehát a cél: a korábban felhasznált módszerek precíz megfogalmazása és nagymértékű általánosítása.

Stratégia II. (Lehetőségeink számbavétele I.)

A feladat az, hogy keressünk olyan, a biológiában használt fogalmi rendszereket, melyek a fenti kritériumoknak megfelelnek. Ilyen rendelkezésünkre áll: s ez nem más, mint a niche-elmélet. A helyzet azért korántsem egyszerű, ugyanis a niche jelenleg használatos apparátusa reparációra szorul. A niche ún. fogalmi definíciója, azaz Hutchinson 1957-ből származó, egy n -dimenziós absztrakt térre, ill. ennek tartományaira vonatkozó definíciója (ahol a niche-tengelyeket a populációra ható releváns környezeti tényezők adják) alapvetően ma is megállja a helyét [9]. A probléma abból adódik — amit mind a mai napig nem vettünk tudomásul, bár a fenti definíció immár több mint 20 éve létezik —, hogy a niche-elmélet alapvetően térelméleti konstrukció, márpedig definíciójából adódóan nyilvánvalóan az, akkor az elméleti

megalapozásának matematikai felépítéséhez térelméleti módszereket kell alkalmaznunk és ehhez járulhatnak a más matematikai apparátust használó kapcsolt modellek. A niche-elmélet megtorpanását a kezdeti áttörés után talán éppen az okozta, hogy a niche meglehetősen elvont fogalma miatt az elmélet képi reprezentációjára építettek és mindenféle, nem mindig adekvát statisztikus modelleket használtak. Márpedig a képi szemléletre való építkezés — csálóka volta miatt — semmiképpen sem lehet megfelelően operatív és elegendően általános. A továbblépéshez az szükséges, hogy a központi modell térelméleti legyen és a különböző statisztikus módszereket használó szubmodellek ehhez kapcsolódjanak. A térelméleti modelltesthez járuló statisztikus modelleknek ott van a jelentősége, hogy lehetővé teszik a központi elméleti konstrukció helyességének ellenőrzését, a valóság leírásában való adekvátságának a vizsgálatát.

Minél általánosabb az elmélet, annál hosszabb az elmélettől a konkrét tényekig vezető út és annál bonyolultabb az elmélet matematikai apparátusa. Esetünkben, a térelméleti modelleknél meglehetősen bonyolult apparátus használata válik szükségessé, melyből csak apró részleteket van módunk bemutatni.

Stratégia III. (Lehetőségeink számbavétele II.)
(Néhány szó a niche-elmélet és az ökológia viszonyáról)

Szükség van egy olyan "általánosított niche-elmélet" kidolgozására, mely elvileg minden olyan kérdésre alkalmazható, melyre az ökológia választ adhat. A meglevő ökológia könyvek többségének alapvető hiányossága éppen az, hogy szerzőik ahelyett, hogy egy ilyen általános módszerre próbálnának alapozni, csak mellékesen említik meg egy ilyen konstrukció lehetőségét, szükségességét [4, 14].

A niche-elmélet és az ökológia egységes egészet alkot. Az ökológia összes fogalma és mennyisége legtermészetesebben, legegyszerűbben és legszigorúbban a niche-elmélet fogalmaiból kell következzen egy megfelelő térelméleti konstrukció esetén. A niche-elmélet és az ökológia viszonya potenciálisan ma is ez! Még ha meg is tudjuk (nyilvánvalóan meg tudjuk) fogalmazni az ökológia általános tételeit a niche-elmélet nélkül, ezek a tételek jóval kevesebbet adnak így; az általános elméleti-gyakorlati összefüggések, kapcsolatrendszerek sokkal kevésbé láthatók: a tételek értelmezése a konkrét esetekben mindenesetre igényelné a niche-elmélet alkalmazását.

Stratégia IV. (Lehetőségeink számbavétele III.)

Legyen adva két differenciálható sokaság,^{1, 2} M és N . Az N sokaságot álapottérnek nevezzük, s a folyamatot jellemző sajátságok által parametrizált.

Az M sokaságot kontroll térnek szokás nevezni [21, 23, 24] és olyan változók által parametrizált, melyek lényegesek a folyamat tanulmányozásához, pl. hőmérséklet, talajnedvesség, páratartalom vagy a rendelkezésre álló táplálék mérete stb. Jelen elméletünkben az M sokaság tölti be a niche-tér szerepét. Ebben az esetben arról van szó, hogy erre ráépítettünk egy "dinamikai aspektust".

Vizsgáljuk a továbbiakban a $\mu: M \times N \rightarrow M$ leképezést. Egy folyamatot a következőképpen értelmezhetünk a fenti absztrakt tereken matematikailag ki-elégítően. Egy folyamat $M \times N$ -nek egy részhalmaza. Ha s egy folyamat és $u \in M$, az s_u folyamatot $s \cap (\{u\} \times N)$ -nek definiáljuk. $u \in M$ -et s reguláris pontjának mondjuk, ha van olyan U nyílt környezete u -nak M -ben és olyan $h: U \times N \rightarrow U \times N$ homeomorfizmus, hogy $\mu h = h\mu$ $U \times N$ -en oly módon, hogy $h(s \cap (U \times N)) = U \times s_u$. Minket elsősorban az M -beli nemreguláris, azaz szinguláris pontok halmaza érdekel, mivel ezek közelében a rendszer viselkedése lényegesen változik. Ilyen "szinguláris jelenség" a biológiában pl. a fajok kihalása, degradáció stb.

A folyamat fenti definíciója sokkal általánosabb, mint amit általában használunk. Így tennünk kell néhány megszorítást. Nevezetesen feltételezzük, hogy adva van egy X sima³ vektormező $M \times N$ -en. Ha $u \in M$, akkor X_u -t $X|(\{u\} \times N)$ -nek definiáljuk,⁴ egy vektormezőnek tekintve N -en. Valamint megkívánjuk, hogy az s folyamat teljesítse azt a feltételt, hogy mindig attraktora⁵ X_u -nak, vagy ha nem, akkor üreshalmaz.

¹A dolgozat keretein belül a használt matematikai fogalmak tárgyalására nincs módunk. Az alkalmazott matematikai apparátus pontos és alapos tárgyalása megtalálható pl. Bishop — Goldberg duó könyvében [3].

²Legyen N egy nem üres, szeparábilis és megszámlálható bázisú Hausdorff-féle topologikus tér, melyben minden p pontnak van olyan nyílt környezete, mely \mathbb{R}^n egy részhalmazával homeomorf (önmagára való, egy-egyértelmű és inverzével együtt folytonos leképezés). Ekkor N -et egy n -dimenziós (topologikus) sokaságnak nevezzük. Ahhoz, hogy egy sokaság differenciálható sokaság legyen, még további követelményeknek kell teljesülniük. A dolgozat további részében sokaságon mindig differenciálható sokaságot értünk.

³Egy X vektormezőt simának nevezünk, ha összes rendű vegyes parciális deriváltja létezik és folytonos.

⁴ $X|(\{u\} \times N)$ X -nek az $(\{u\} \times N)$ -re való megszorítását jelöli.

Ezt a modellt még mindig bonyolult tanulmányozni, ugyanis nem eléggé ismertek az ilyen vektormezők. Válasszuk tehát a következő megoldást: tegyük föl, hogy adva van egy elegendően sima $V: M \times N \rightarrow \mathbb{R}$ függvény; mindegyik $u \in M$ -re tekintsük $V_u = V|(\{u\} \times N)$ -et mint N -en értelmezett sima függvényt és feltesszük, hogy mindegyik u -ra az X_u vektormező N -en gradiensmezeje $-V_u$ -nak. Más szóval tekintsük V -t mint potenciálfüggvények családját N -en; X_u attraktorai pedig éppen C_u lokális minimumai lesznek.

Rendszerint további, különböző típusú megszorítások tehetők, különféle konvenciók értelmezhetők a modellezés céljának megfelelően [21, 23, 24]. Ezek a modellhelyzettől függőek, céljuk és szerepük a matematikai módszer plaszticitásának, adekvátabb modellek létrehozásának biztosítása.

NÉMI VIZSGÁLÓDÁS AZ ÚJ KONSTRUKCIÓ HASZNOSSÁGÁT ILLETŐEN

A fenti elmélet a korábbi elmélet általánosításának, új matematikai alapokra helyezésének tekinthető. Ennek következtében a korábbi empirikus tényanyag nyilvánvalóan érvényben marad, tehát az elmélet mellett szóló bizonyító tényanyag nem csökken, sőt az elmélet egyes tételei alapján bizonyos kvalitatív predikciók is lehetségessé válnak, melyek a korábbiakban nem voltak lehetségesek. Olyan kvalitatív tulajdonságokat is lehet mérni, ill. becsülni, melyekről a korábbiakban nehéz volt bármit is mondani a megfelelő modell-koncepciók hiányában, vagy a kivitelezés gyakorlatilag lehetetlen volt. Pl. ilyen a resiliencia, bizonyos stabilitási vonatkozások vagy degradációval összefüggő problémák.

Egy "jó" tudományos elmélettől nemcsak azt szokás elvárni, hogy magyarázattal szolgáljon a tények széles körű együttesére és nagyszámú előrelátáshoz vezessen, hanem egyúttal azt is, hogy megtermékenyítse a kutatást más, főleg rokon tudományterületeken. Jelen esetben ez az egységes térelméleti koncepció miatt fokozottan érvényesül. Pl. a populációgenetikai és ökológiai eredmények szintézise talán közelebb kerül a megvalósuláshoz, ami bizony a korábbiakban oly sok szorgalmazás ellenére is elég nehezen ment.

⁵ X_u attraktorának egy kompakt invariáns halmazt nevezünk, ha van olyan környezete, melyre igaz, hogy a $h(t)$ reprezentatív pont a q egyensúlyi pont irányába tart, s ez a q pont olyan, hogy q közelébből minden trajektória q -ba megy és ugyanakkor nem hagyja el trajektória q -t.

Egy módszertani kérdés

A topológia⁶ a lokálisról a globálisra való áttérés eszköze, s a fenti térelméleti konstrukciónál, az általánosított niche-elméletnél ez különösen nagy jelentőségű előny, hiszen az ökológiában a rendszer globális kvalitatív viselkedése az érdekes: azonban csak lokális megfigyelésekre, mérésekre szorítkozhatunk és ebből kell bizonyos módszerek segítségével a globális viselkedésre megállapításokat tennünk. Azt hiszem, nyugodt lelkiismerettel állíthatjuk, mai eszköztárunkkal ez nagyobb részben lehetetlen. A niche-modellek, éppen geometriai voltak miatt tettek ennek úgy-ahogy eleget, bár a modelleknek ezt a nagy jelentőségű sajátosságát nem — vagy csak közvetve — vették figyelembe.

Kételyek oszlatása

A tudományos megismerés folyamatának vizsgálata révén mind nyilvánvalóbbá vált az, hogy a megismerés sokkal bonyolultabb folyamat, mint azt korábban hittük [2, 7, 19], s olyan kiegészítő jellegű tudományos fogalmak és kategóriák felépítésével is összefügg, melyeknek nincs reális megfelelőjük, nem a megismerési folyamat egy konkrét szituációjában keletkeznek, sokkal inkább a kutatók képessége és felfogása, az absztrakt tudományos elméletekben való felhasználhatósága határozza meg őket.

A populációgenetika egy modern konstrukciójának bemutatása

A szelekció és a rekombináció hatását leíró egyenletek nemlineárisak, ezért nem lehet őket megoldani analitikusan [1]. Ezért bonyolult leírni a rendszer kvalitatív viselkedését. Pedig egy biológust főleg ez érdekelne. Ilyenkor az az út követhető, hogy a rendszer globális geometriai képét határozzuk meg.

A populációgenetika ilyen típusú modelljei, vázlatosan ismertetve, a következő gondolatmenet szerint építkeznek: Tekintsük diploid szervezetek nagy

⁶A topológia egyfajta geometria, még ha kissé "durva, darabos, elnagyolt" is, egyszóval más, mint amit szemléletünk megszokott. Úgy is mondhatnánk, hogy az alapvető geometria a topológia. Avagy a topológia a különböző geometriák bizonyos közös sajátosságaival foglalkozik. (Bár aligha tagadható a topológia immanens fejlődéséből adódó sajátos problémafelvetés és apparátus léte.)

populációját, melyek haploid gamétái között n félet különböztetünk meg és indexezzük ezeket az $I := \{1, \dots, n\}$ indexhalmazzal. Így a populáció egyedeit $\{i, j\}$ rendezetlen párokkal írhatjuk le, genotípusaik szerint megkülönböztetve őket. Amennyiben p_i jelöli a populációból az i -típusú gaméták arányát, akkor a $p = (p_1, \dots, p_n)$ gamétaeloszlás egy vektor a $Q = \{p \in \mathbb{R}^n; p_i \geq 0 \text{ és } \sum p_i = 1\}$ szimplexben. Q egy $(n-1)$ -dimenziós sokaság, melynek érintőtere $(T_p Q)$ minden pontban \mathbb{R}^n . Így az összes lehetséges gamétaeloszlások által alkotott teret a következő, ún. Shahshahani metrikával látjuk el:

$$(X, Y)_p = \sum_i p_i^{-1} X_i Y_i, \quad X, Y \in T_p Q, p \in Q.$$

Egy kísértés, melynek a szerző nem tud ellenállni

Az evolúciós folyamatokat a fenti Riemann téren értelmezett vektorokkal modellezhetjük [1]. Ezek a modellek tekintélyes mértékben összeesengenek az ökológia modern apparátusáról alkotott nézeteinkkel, s az ilyen matematikai modellek közötti kapcsolat vizsgálata egy új, s érdekes aspektusát világíthatja meg a szupraindividuális organizáció kutatásának, s egyúttal közelebb vihet egy evolúciós ökológia megteremtéséhez, felépítéséhez [5, 16].

A TÖRTÉNETISÉG "ÁRNYÉKA"

Mese a Matematikusról és az Egyszeri Biológusról

A dolgozatban tárgyalt és az ehhez hasonló modelleknek van még egy jelentőségük. Ennek megvilágításához induljunk ki egy egyszerű helyzettől: Az Egyszeri Biológus, akinek van néhány jó ötlete, átmegy a Matematikushoz, akinek a segítségére éppen szüksége volna, hogy valósítsák ezeket meg együtt. Nos, mi szokott ilyenkor történni? Rendszerint a mindkét részről tanúsított legnagyobb jószándék ellenére totális a meg nem értés. A csőd okainak kutatása általában nem szokott messzebb menni az egymásra mutogatásnál. Nevezetesen a matematikus nem vagy alig ért a biológiához, a biológus pedig a matematikához. Pedig a hiba máshol keresendő! A matematikusok és biológusok termékeny párbeszédének hiánya ennél mélyebben gyökerezik, nevezetesen a mai biológiának nincsenek olyan megfelelően egységes, fogalmilag tisztázott és matematikai alappal rendelkező rendszerei, melyek alapján ez a párbeszéd létrejöhetne. A fő ok tehát nem az egyén tudásának hiányosságában (vagy nem

csak ebben) keresendő, hanem objektív tudománytörténeti tényként kezelendő!

A dolgozat által javasolt modellek jelentősége ebből a szempontból éppen az, hogy az ökológia jelenségeinek értelmezéséhez olyan egységes alapot szolgáltat, melynek révén ez a párbeszéd létrejöhet.

A fenti mese profanizálva

Az ökológia elméleti alapjainak egységes matematikai tárgyalása a következő, történetileg motivált tényezők miatt nem jöhetett létre:

1. Léteznek ugyan többé-kevésbé jó matematikai modellek, de számos esetben nem biológusok hozták őket létre, így ezek a modellek részterületek (melyek matematikai szempontból érdekesek voltak) feldolgozását adják.

2. Ha biológusok próbálkoztak is matematikai modellezéssel, nem látták (nem is láthatták) át a hatalmas matematikai apparátus nyújtotta lehetőségeket.

Avagy ugyanez másként:

1'. Nem voltak tisztázottak az ökológia fogalmi alapjai. (Ma is elevenen ható probléma.)

2'. Nem voltak — s ma sincsenek — a biológia igényeihez, követelményeihez igazított matematikai apparátusok.

MENTEGETŐZÉS SAJÁTOS FORMÁBAN

Szeretném a címben szereplő "egy" határozatlan névelő szerepét hangsúlyozni, mivel a fent vázolt elmélet (ill. ezen elmélet létrehozásának stratégiája) nem tartja fenn magának az egyedül jogos címet, s a versengő, hasonló elméletek között az idő múlásával egyedül jogos döntőbíró a gyakorlat. Az ökológia tisztázott fogalmi alapokra épülő, megfelelően absztrakt, s ebből adódóan elegendően általános matematikai alapja kialakításának szükség-szerűsége azonban aligha lehet kétséges.

Aligha tagadható, az ökológus az elméletek mai fejlettségi szintjével is többé-kevésbé jól boldogul a gyakorlati problémák megoldásában. Ugyanakkor az ökológia egzakt fogalmi-matematikai alapokra helyezésének mégis óriási a jelentősége, hiszen csírája lehet egész ökológiai gondolkodásunk, szemléletünk átrendeződésének, változásának; s támaszt nyújthat a jövőben felmerülő, a mainál feltehetően jóval bonyolultabb ökológiai-környezetvédelmi problémák

megoldásához. Ma még képtelenség előre látni, megjósolni, hogy az elméleti alapoknak ez a kialakítása — véglegesen — hogyan fog történni, éppen ezért az erre vonatkozó javaslatokat különös figyelemmel kell kezelni!

S végezetül hadd idézzem André Re v u z — esetünkben is aktuális — kijelentését: Ha a biológia "nem hajlandó élni a matematika csodálatos eszközeivel, akkor arra ítéli magát, hogy egyes esetekre vonatkozó receptgyűjteményt használ, szétszórta, szervesen eredményeket gyűjtöget össze, amibe előbb-utóbb belefűl; avagy másképp mondva túlspecializálódik és legjobb esetben idejétmúlt eszközökkel kézművesmunkát végez".

ÖSSZEGRÉS

A dolgozat a modern ökológia elméleti megalapozásának egy lehetséges változatát mutatja be, ahol a "modern" szó nem a "napjainkban művelt" szinonimája, hanem a modern ökológiának arra a specifikumára vonatkozik, hogy problémái megoldásához modelleket, elsősorban matematikai modelleket használ. A problémának több egyenértékű megoldása is létezik, mi ezek közül választunk egyet. Azt az esetet, amikor a megalapozás eszközeül a niche-elmélet szolgál. A niche-modellek már ma is önálló elméleti rendszert képeznek az ökológián belül, s a cikkben azt fejtegettük, hogy az ökológiában ez az elmélet a közeljövőben központi helyet foglalhat el, s az egész ökológia egzakt fogalmi, matematikai, modell-konceptcionális megalapozását adhatja. Ehhez egy kemény matematikai apparátust használó és biológiai alkalmazhatóságát tekintve meglehetősen általános, részletesen ki nem dolgozott modellt mutattunk be. A cikk elsősorban esszé jellegű, a szerző a legkevésbé sem hiszi azt, hogy a felvetett problémát megoldotta. Sokkal inkább az volt a célja, hogy a feladat fontosságára felhívja a figyelmet. "Hangosan" gondolkodják a felvetett kérdéseken, s ezzel együttgondolkodásra késztesen, vitára ingereljen.

I R O D A L O M

1. A k i n, E. (1979): The geometry of population genetics. Springer, Berlin.
2. A tudományos megismerés történeti és módszertani problémái. (1980): Gondolat K., Budapest.
3. B i s h o p, L. R. & G o l d b e r g, S. I. (1968): Tensor analysis on manifolds. MacMillan Comp., New York.

4. Colinvaux, P. A. (1973): Introduction to ecology. Wiley, New York.
5. Emlen, J. M. (1973): Ecology: an evolutionary approach. Addison-Wesley, New York.
6. Fehér M. és Hársing L. (1977): A tudományos problémától az elméletig. Kossuth K., Budapest.
7. Fehér M. (1983): A tudományfejlődés kérdőjelei. Akadémiai K., Budapest.
8. Gurmana, V. I. (1981): Modeli upravlenija prirodnimi reszurszami. Nauka, Moszkva.
9. Hutchinson, G. E. (1957): Concluding remarks. Cold. Spring Harbor Symp. Quant Biol., 22, 415—427.
10. Jakucs P., Dévai Gy. és Précsényi I. (1984): Az ökológiáról — ökológus szemmel. Magyar Tudomány, 5, 348—360.
11. Juhász-Nagy P. (1970): Egy operatív ökológia hiánya és szükséglete. MTA Biol. Oszt. Közl., 12, 441—464.
12. Juhász-Nagy P. (1984): Beszélgetések az ökológiáról. Mezőgazdasági K., Budapest.
13. Kuhn, Th. (1984): A tudományos forradalmak szerkezete. Gondolat K., Budapest.
14. Odum, E. P. (1971): Fundamentals of ecology. 3rd ed. Saunders, Philadelphia.
15. Patten, B. C. & Shugart, H. H. (1972): Niche Quantification and the Concept of Niche Pattern. In: Patten, C. B. (ed.): System Analysis and Simulation in Ecology. Vol. II. Academic Press, New York.
16. Pianka, E. R. (1978): Evolutionary Ecology. 2nd ed., Harper & Row, New York.
17. Popper, K. (1968): Logic, methodology and philosophy of science. 3rd ed., Amsterdam.
18. Précsényi I. (1984): Az ökológia tárgyának egy lehetséges megközelítése. Bot. Közlemények, 71, 163—165.
19. Revuz, A. (1972): Modern matematika — élő matematika. Gondolat K., Budapest.
20. Sós V. (1978): Modern igazságelméletek. Filozófiai-logikai elemzés. Gondolat K., Budapest.
21. Thom, R. (1972): Stabilité structurelle et morphogénèse. Benjamin, Reading.
22. Wartofsky, M. W. (1977): A tudományos gondolkodás fogalmi alapjai. Gondolat K., Budapest.
23. Wasserman, G. (1974): Stability of unfoldings. Springer, Berlin.
24. Zeeman, E. C. (1977): Catastrophe theory: selected papers (1972—1977). Addison-Wesley, Reading.

FOUNDATION OF THEORETICAL ECOLOGY, ONE FEASIBLE STRATEGY

Tóthmérész, B.

Department of Botany, Kossuth University of Debrecen, Debrecen, Hungary

A program or strategi of theoretical foundation of modern ecology is given. The role of mathematical investigations is stressed in the theory of modern ecology. The fundamental methodological problem of ecology is the following: The empirical investigations are local but the problem of ecology (and e.g. also of environmental conservation) are global. To this propose succesful mathematical framework is the geometry (especially: topology) because the topology is precisely the mathematical discipline dealing with the passage from the local to the global.

The conceptual basis is the generalized niche theory; this is the mathematical generalization and conceptually exact re-working of Hutchinson's concept of the n -dimensional niche. He said: considering the niche as the hypervolume in an n -dimensional Euclidean space (this is the niche space) with each axis of this hyperspace corresponding to some relevant environmental variable. This definition conceptually is true at the present time too, but the main mistake of theoretical ecologists is that the concept of niche is a geometrical concept, but they do with statistical models, and don't with geometrical ones. The generalized niche theory does with abstract geometrical theory (Riemannian manifold: niche space, domains of n -dimensional manifolds: niches, vector space, gradient field, potential function).

The statistical models (attached to the "body of central geometrical generalized niche model") have importance in the operational problems. The generalized niche theory promise uniform theoretical foundation to the explanation of phenomena of ecology.

The central theory of modern ecology must do with one uniform, suitable general and sufficiently abstract (mathematical) theory. This is better clue to the ultimate nature of ecological reality than the others.

MAKROEVOLÚCIÓ

Ernst Haeckel születésének 150. évfordulója alkalmából
a Magyar Biológiai Társaság Általános és Elméleti Biológiai Szakosztálya
és a Magyar Állami Földtani Intézet Filozófiai Vitaköre
által rendezett ankéton
1984. május 15-én elhangzott előadások

ERNST HAECKEL (1834—1919)

KISZELY GYÖRGY

A múlt század utolsó évtizedeinek és századunk első harmadának a biológiai tudományok terén egyik kiemelkedő alakja Ernst Haeckel jénai professzor. Neve nemcsak a tudományos szakemberek körében, hanem mondhatnók a legszélesebb körű laikus társadalomban is ismert volt. Egyike azoknak a tudósoknak, akik körül szinte állandóan kavargott a vélemények vihara. Hol egekig magasztalták, hol pocskondiázták. Mai szemmel és szigorú tudományos kritikával nézve azt kellene mondanunk, hogy a tudományokban maradandót alig alkotott, eredeti, teljesen tőle származó elgondolásai alig vannak, tételei, elméletei csaknem mind elavultak, megdőlték. Mégis azt kell látnunk, hogy neve ma is fogalom, életműve mégis nagyszerű.

Nézzük elsősorban a kortársak egy részének szinte megsemmisítőnek látszó kritikáját. Általában azt vetették a szemére, hogy műveiben a részleteket dilettáns felületességgel tárgyalja, a biológusok természetfilozófiai kalandorsággal vádolták. Az embriológusok, élükön O. Hertwiggel, embriológiai tudását egyoldalúsággal, hiányossággal vádolták, saját kezű embriológiai rajzait szkematikusnak, elnagyoltnak minősítették, amelyeknek tudományos értékük nincs. Mégis ki kell emelni, hogy a rengeteg elmarasztaló nézet és vélemény ellenére hamisítással sohasem vádolták. Filozófusok szerint ismeretelméleti alapjai teljesen hiányoznak, szemére vetik a logikai tartalom teljes hiányát és azt, hogy képtelen a legegyszerűbb fogalmak világos meghatározására. Mindezekkel szemben objektív kritika esetén csak rajzait kell megnézni, a Die Lebenswunder c. munkája első fejezetének irodalmát fellapozni (ahol Spinozát, Kantot, Spencert és az ismeretelmélet tekintélyét, Eduard Hartmann-t idézi), hivatkozni kell szinte mániákus rendszerezési törekvéseire és törzsfa-rendszerére, és máris megdőlt a logikai tartalom hiányára vonatkozó támadás. Aki látta Jenában a Haeckel-házban a radioláriák, szivacsok, medúzák, földtörténeti korok csodálatos grafikáit,

akvarelljeit, könyveinek saját kezű, szinte utolérhetetlen finomságú illusztrációit, csak megdöbbenhet azon az elfogultságon, amely művészetét legfeljebb a tehetséges dilettáns megjelölésre méltatja.

Nézzük meg Haeckel munkásságának néhány részletét mai szemmel. Tudományos munkássága kezdetén J. Müller és Virchow inspirálta. Disszertációja a folyami rák szöveteiről Müller irányításával készült, másik kezdő munkája Virchow intézetéből az érfonatok patológiájáról szól. E kezdő munkák kevésbé eredetiek, de gondosan készültek, pontosak. Egyébként az érfonatokról írt dolgozata az egyetlen, amely gerincesekre vonatkozik. Tudományos érdeklődése mindig a gerinctelenekre irányult. Harmadik útnak indítója Kölliker, akinek tanácsára a Földközi-tengerhez ment, és ott gyűjtötte első nagy munkájához az anyagot, amely 1862-ben Die Radiolarien címmel meg is jelent, s azt J. Müller emlékének ajánlotta. Tudományos értelemben talán ez Haeckel legnagyobb műve, amelyhez hasonló, önálló kutatómunkán alapuló és időtálló két műve az 1882-ben kiadott monográfia a szivacsokról, és az 1879-ben megjelent Das System der Medusen. E három munkájában mindjobban előtérbe került, hogy Darwinhoz csatlakozik, másrészt a medúzák rendszeréről szóló mű már a címében is viseli Haeckel törekvését és kitűnő érzékét a rendszerezés iránt. Ugyanakkor az utóbbi könyvében indul el a természetfilozófiai spekulációk útján. Ekkor állítja fel az új állatrendet: a Monerák rendjét, amely szerinte "... a filozófiai természettudomány logikus postulátuma".

Közben 1866-ban kiadta a Genérelle Morphologie der Organismen c. könyvét, amely a leszármazási elméleten alapszik, s ettől kezdve elkötelezett, sokszor fanatikus hirdetője a darwinizmusnak. Megállapítja, hogy a morfológia feladata az élet formáinak, jelenségeinek mechanikus-kauzális magyarázata. Vakon hisz abban, hogy ezzel minden elgondolható valóban magyarázható. Ez az a Haeckel egész életén végighúzódó monisztikus, mechanikus élet szemlélet, amit már kortársai is támadtak és ma is megállapíthatjuk, hogy itt van Haeckel egyik gyenge pontja, mert nem látta a mechanikus természetmagyarázat korlátait. Állítja, hogy semmi lényeges (wesentlich) különbség az élettelen és élő között nincs: az élő sejt és a kristály egymással minden tekintetben összevethető. Ugyanakkor észre kell vennünk a bukfcenet filozófiájában, amikor az ember leszármazásával kapcsolatban a következetes monizmus alapján kijelenti: "anyag lélek nélkül, lélek anyag nélkül nem képzelhető el", s nem veszi észre, hogy itt a természeti jelenségek értelmezésére általa feltétlen, kategorikus követelményként felállított tétellel kerül szembe, hogy ti. minden természeti jelenség mechanikusan magyarázható és

azzal is kell magyarázni. Haeckel a Generelle Morphologie-t legjelentősebb spekulatív munkájának tartotta, de csak egyetlen kiadást ért meg, ami azt mutatja, hogy nem keltett nagy érdeklődést. Nagy sikerűek és távoli tudományos kihatásaikban igen fontos, népszerűvé vált munkái a Natürliche Schöpfungsgeschichte (1866), valamint az Anthropogenie oder Entwicklungsgeschichte des Menschen (1874), amelyek a darwinizmus megismertetésének sok nyelvre lefordított forrásai. Itt vetődik fel bizonyító argumentumként a már Haeckel által kimondott biogenetikai alaptörvény.

Eszerint az egyedfejlődés során egymás után felismerhetők azok az evolúciós stádiumok, amelyek a fajfejlődésben megfigyelhetők. A legfejlettebb soksejtű, pl az ember is egyedfejlődését az egysejtű állapottal kezdi, majd a szederocsíra (morula), hólyagcsíra (blasztula), bélcsíra (gasztrula) állapot után indul meg a szervi differenciálódás: a gerinctelen, a primitív gerinces (hal, kétéltű, hüllő) és innen az emlős szervezetek felé. Ezeknek az egyedfejlődési állapotoknak a megfelelő típusait a fajfejlődésben Haeckel szerint meg kell, ill. lehet találni. Maga a "törvény" így szól: az egyedfejlődés a fajfejlődés gyors rekapitulációja. Haeckel az egyszerű sejtársulásokból az általa Blasteades-nek nevezett csoporthoz jut el, de ennek a blasztula állapotnak megfelelő mai vagy kihalt formákat nem talált. És itt lép be Haeckelnek talán legzseniálisabb elgondolása: a Gastrea-elmélet. Az élő világ alacsonyabb szintjein ugyanis rengeteg olyan faj van, amely az egyedfejlődés gasztrula stádiumának felel meg, az ősbéllel, ősszájjal, csíralemezekkel. A gasztrula képződésének egyik — de nem egyedüli — módja a hólyagcsíra falának betüremkedése, invaginációja. És éppen ez az invagináció a gasztrula-elmélet kulcspontja. Ettől a "Gastreaes" típustól vezethetők le a különböző szerveződési fokú, egyre bonyolultabb gerinctelen és gerinces szervezetek. A gasztrea-elmélet évtizedekig, szinte napjainkig befolyást gyakorolt a biológiai gondolkozásra.

Mind a rekapituláció elve, mind pedig a gasztrea-elmélet már Haeckel életében sok kritikát kapott és a felhozott ellenérvek megcáfolhatatlan tényeken nyugszanak. Azt az ellenvetést, hogy az emberi gasztrula nem invaginációs típusú, még Haeckel kivételes egyedfejlődési jelenségként magyarázni próbálta, de nincs magyarázat arra, hogy éppen sok Coelenterata (úrbélű) fejlődésében sincs invaginációs gasztruláció. A természet egységét, az élővilág evolúciós kialakulásának elvét hirdető és amellelt harcoló Haeckelnek a rekapitulációs elméletét a növényi evolúcióban sohasem és azóta sem sikerült következetesen érvényesíteni.

Az evolúciós szemléletű Haeckel rendszerező, összefüggéseket kereső és levezető gondolkodása az 1890-es években a törzsfák megszerkesztéséhez vezetett. A természetes rendszertan kitűnő szemléltetéshez, áttekintéshez jutott a törzsfák felhasználásával, s a törzsfák ma is használatosak, ha Haeckel eredeti törzsfái természetesen jórészt elavultak és részleteikben hibásak is. Maga Haeckel az ember származásának levezetésére is felhasználta ezt a lehetőséget.

1899-ben jelent meg Haeckel egyik nagyon fontos munkája: a "Welträtsel" (Világproblémák), amely szót és kérdést Du Bois-Reymond vetette fel, s Haeckel tulajdonképpen erre reflektál. Monisztikus filozófiájának fő tételeit ebben fejti ki, majd ennek a könyvének szakmai-ideológiai kiegészítése az 1904-ben megjelent "Die Lebenswunder" (Az élet csodái). A Welträtselnek hallatlan sikere volt; századunk közepéig több mint 400 000 példányban kelt el, sok nyelvre lefordították. A Welträtsel és a Die Lebenswunder sikere és óriási jelentősége abban van, hogy az európai művelt közönséget olyan természettudományi, biológiai területtel ismerteti meg, amely a szaktudományok művelői révén szinte soha nem lett közkinccs. Lehet, hogy Haeckel szakmai részletekben itt-ott szkematikus volt, világképe talán elnagyolt, de a következetes materialista-monista felfogás alapján nemcsak a darwini gondolatot propagálta, hanem az egész természetről, különösen pedig az élő világról olyan széles horizontot tárt fel s azt olyan szintézisbe igyekezett befoglalni, amilyenre addig példa nem volt. Kritikával bőven és elfogultan elhalmozták, bőségesen vitatható ma is sok tétele és filozófiája, de életműve egészében szinte korszakalkotó.

A darwinizmus érdekében végzett fanatikus kiállításának egyik példája 1877-ben Münchenben a Természetkutatók Gyűlésén tartott előadása a fejlődéselmélet és a tudomány viszonyáról szolt. Megállapította, hogy a biológia, a fejlődéselmélet alkalmas arra, hogy az egységes természetszemléletet kialakítsa, az emberi életet általános humanitárius irányban átalakítsa, így minden oktatás alapja kell, hogy legyen. Ez ellen Virchow erélyesen fellépett, s végül a darwinizmust a német iskolákból kitiltották. Haeckel válasza a "Freie Wissenschaft und freie Lehre", melyben "biztos bizonyítékokkal" védte a descendencia-elméletet.

Haeckelt igazolta az idő, a fejlődés gondolata mindenrová betört. Idézzük Haeckelt: "... a haladás természettörvény, melyet sem a tyrannusok fegyverei, sem a papok átkai nem tudnak tartósan megállítani". Haeckel népszerűségének egyik oka az is volt, hogy a század végi—század eleji szociális és munkásmozgalmaknak művei kitűnő filozófiai és természettudo-

mányos háttérrel adtak. Engels, majd Lenin is felhívták a figyelmet Haeckel munkáinak jelentőségére. Lenin a Materializmus és empiriokriticizmus c. művében említi a haeckeli természettörténeti materializmust, mint Haeckel életművének alapját.

Bőven lehetne még elemezni, cáfolni, elismerni Haeckel tanait, természettudományos érdemeit, filozófiájának, különösen öregségében felbukkant ellentmondásosságát, és az emlékére rendezett ankét gazdag tudományos programja bőséges lehetőséget adott Haeckel egyéniségének, gondolatainak, eredményeinek, tévedéseinek, a mai tudományhoz viszonyulásának részletezésére. A tudományok filogenezise, egy-egy tudomány ontogenezise és a tudományos gondolkodás ökológiája kapott ott hangot, s e három kifejezés: filogenezis, ontogenezis, ökológia is Haeckeltől származik.

Haeckel jelentőségét tudománytörténeti vonatkozásban két kiindulópontból értékelhetjük. Ahogy Kopernikusz a geocentrikus világnézetet tette időszerűtlenné, ugyanúgy Darwin az antropocentrikus dogmát döntötte meg. Haeckel pedig különösen a darwini alapokon népszerűsít, felvilágosít, megszállottan agitál, a korszerű tudomány és világszemlélet terjesztője, elfogadtatója.

ERNST HAECKEL TERMÉSZETTUDOMÁNYOS JELENTŐSÉGE

NAGY ISTVÁN ZOLTÁN

Természettudományi Múzeum, Budapest

A múlt század látványos természettudományi eredményei egy kissé túllelkesítették azok művelőit. Ezt a megállapítást természetesen csak utólag tehetjük, hiszen akkoriban úgy tűnt, hogy szinte kizárólag ez a tudományágazat lesz az, amelyik a civilizáció áldásos eredményeivel a kultúra magasabb szintű jövőjét lesz hivatva megvalósítani. Elsősorban az akkori természetfilozófiák tükrözték ezt az optimista hangulatot.

A kor legaktívabb "természetbölcselei" Haeckel, Ostwald és Reinke voltak. E két utóbbi közül nálunk inkább Ostwald volt az ismertebb. Az I. világháború előtt több kiadásban forogtak a könyvei, sőt a természetfilozófiai bevezetése még 1922-ben is megjelent Budapesten. Kétségteljesen Haeckel volt a legszélesebb körökben ismert, mindenekelőtt ismeretterjesztő-természetfilozófiai munkái révén.

Ismeretes, hogy természettudományi képzettségét orvosi tanulmányokkal alapozta meg. Bár kezdetben kifejezetten botanikai érdeklődése volt, tanulmányait apja határozott kívánságára kezdte el, illetve végezte el Berlinben és Würzburgban. Érdeklődési körének fordulatát Johannes Müllernek köszönhette, akinek személyében találta meg igazi tudományos ideálját. Intézetében vált kedvenc területévé a komparatív anatómia.

Diákkorának néhány kirándulása (pl. Helgolandra 1854-ben) után 1856-ban Köllikerrel együtt utazott Nizzába egy nagyobb szabású mediterrán gyűjtőútra. Itt, a Földközi-tenger faunájának vizsgálata közben gyűlt össze disszertációjának anyaga is. Ebből született meg az "Über die Gewebe des Flusskrebse", melynek alapján megszerezte a dr. med. címet 1857-ben.

Az orvosi gyakorlat helyett Jénában kívánta folytatni egyetemi pályafutását. Itt került közelebbi barátságba Gegenbaurral is. Olaszországi gyűjtőút következtében (1859), ekkor tett szert Radiolaria monográfiá-

jának anyagára. Néhány faunisztikai — elsősorban az új taxonok leírását tartalmazó — közleménye után a monográfia is megjelent 1862-ben. Előző évben "De Rhizopodum finibus et ordinibus" tárgykörből habilitált az orvosi karon, és egyidejűleg Gegenbaur zoológiai előadásait is átvette. A Radiolaria-monográfia meghozta számára a rendkívüli professzori címet is, még ugyanabban az évben.

Ez a széles körű elismerést kiváltott munka már a darwini eszmékhez való csatlakozását is tükrözi. Ez az elkötelezettség ettől fogva külön munkákban és előadásokban is megnyilvánult (pl. először a stettini Német Természetkutatók és Orvosok Vándorgyűlésén, 1863-ban).

A természettudományi Academia Leopoldina a legnagyobb kitüntetését, az arany "Cothenius Érmét" is megkapta, maga az elnök, Carus javaslata alapján. Ez a kiemelkedő aktus sajnos szinte napra egybeesett felesége halálával. Ekkor ismét Nizzába utazott, és elmélyült tanulmányi idő következett számára. Egymás után jelentek meg tanulmányai a medúzák élet- és rendszertanáról.

Hazatérése után egy átfogó, nagyobb szabású művet tervezett a darwini elméletről. Ez a terv a "Generelle Morphologie"-ben testesült meg (1866). Ennek a kétkötetes, közel ezer oldalas munkának a lényegét az alcím fejezi ki tömören: "Allgemeine Grundzüge der organischen Formenwissenschaft, mechanisch begründet durch die von Charles Darwin reformierte Deszendenztheorie".

Nizzai gyűjtése idején Villafranca közelében sajátos lényt fedezett fel, a Protogenes primordialist, amelyet az amőbáknál primitívebb lények közé sorolt. Amikor később (1866/67) a Kanári-szigeteken töltött néhány kutató hónapot, itt is talált a Protogenes-hez hasonlóakat. Ezek alapján írta meg a Monerákról és Protistákról szóló munkáit (1868, 1870). Abból a meggondolásból indult ki, hogy mivel a Moneráknak nincs sejtmagjuk, a sejteknél alacsonyabb szerveződésű lények. Szerinte ezek kapcsolnak össze a szerves világot a szervessel. (A Monerák később szintén egysejtűeknek bizonyultak.)

Száma számára a szerves-szerveetlen világ már annyira összerosódott, hogy azonos törvényszerűségeket látott pl. az ásványi kristályok és a Radiolaria vázok keletkezésében. Az ily módon kialakított egységes világképét szeretne volna bemutatni a "Generelle Morphologie"-ben. A szellemi és anyagi világ hézagait biztos és főleg merész lendülettel hidalja át. Itt, ezen a téren egyaránt alapozott Darwinra és Lamarckra. A fajváltozás kérdésében hangoztatta, hogy a kiválogatódás és alkalmazkodás együttes hatásával kell

számolni. Általában sokat fáradozott Lamarck kissé feledésbe merült személyének felelevenítésén.

A Kanári-szigetekről hazatérve elkezdte a mészszivacsok feldolgozását. Ez a háromkötetes monográfia 1872-ben jelent meg. E munka során tapasztalta, hogy az egyedfejlődésben ismert "gastreae" fázis magasabb életformákban is előbukkan. Gyakori előfordulása alapján arra gondolt, hogy erre a formára vezeti vissza az összes magasabbrendű szervezetet. Egységes nevet is adott ennek a stádiumnak, a "Gastreae"-t (1874, 1887).

Hamarosan észreveszi azt is, hogy a gerincesek fejlődésében rendszeresen megjelennek a gastreaénál magasabb egyedfejlődési fokozatok is, amelyek mindegyike egy-egy ősalak pillanatképét rögzíti. Ez a felismerés arra készteti, hogy szabatosan megfogalmazza a biogenetikai alaptörvényt. A definíció a Generelle Morphologie II. kötetének 300. oldalán található a 40–44. tételekben.

Ne időzzünk most a régi vitán: ki az igazi felfedezője ennek a törvénynek. Kohlbrugge (1911) Goethétől Haeckelig 72 szerzőt sorol fel, akiknél többé-kevésbé határozottan megtalálható ez a tétel. (A nevek között szerepel a mi legidősebb Lenhossékunk is az 1816. és 1822. évek dátumaival [Soós, 1926].) Mindezekről függetlenül természetesen Haeckel tömör megfogalmazása és a gondolat intenzív propagálása kétségkívüli érdeme. A törvény vagy szabály revíziója egyébként szinte minden szakterületen állandóan folyik az embriológiától kezdve az őslénytanig.

A törvény (vagy szabály) fogadtatása nagyon vegyes volt. Akik pozitív véleménnyel fogadták, azok a saját szakterületükön is megkísérelték igazolni érvényességét. Így pl. Semon a tüskésbőrűek körében foglalkozott vele, Kowalewsky a gerincesek és férgek rokonságát vélte segítségével igazolni. Ray-Lankester az ízeltlábúak filogéniájának magyarázatában vette segítségül, Heymons a rovaroknál, Wiedersheim, Huxley és Stratz az ember őseire alkalmazta.

Haeckel élénk fantáziával formálta tovább ezt a gondolatot. Ebből a nézőpontból kezdte vizsgálni az egyes élőlény-csoportok rokoni, származási összefüggéseit. E tevékenység folytán három nagyobb szabású mű jött létre: a "Natürliche Schöpfungsgeschichte" (1868), a "Systematische Phylogenie" (1894) és az "Anthropogenie" (1874). Mivel ezekben tárgyalja az élővilág fejlődését a legrégebb időkől napjainkig, többen állítják, hogy a biológiát mint történeti tudományt is ő alapozta meg.

Az mindenesetre tény, hogy ezekben az elmefuttatásokban, rokonsági összefüggések felvázolásában ő volt az első, aki szemléltetésükre megalkotta

a phylogrammákat. Rendszertani, származástani munkáknak ma már szinte elengedhetetlen illusztrációi ezek a "törzsfák", természetesen magukon viselve a tudományos módszerek mindenkori szívonalát. Egyik fő törekvése volt Haeckelnek, hogy az átmeneti alakokat, törzsfák elágazási pontjait is keresse. Ismeretes, hogy Darwinnak is komoly gondot okozott ez a kérdés ("missing link"). A paleontológia idővel pótolta is ezekből elég sokat. Volt közöttük nem egy, amelyet az elméleti levezetések "alkottak meg" előzetesen. Nagyon sok azonban — úgy tűnik — nem is fog előkerülni. Természetesen erre az utóbbi feltevésre is született több, szellemes hipotézis. Elég itt Schindewolf tipogenezisére, vagy a pillanatnyilag legvalószínűbbnek látszó mozaik-evolúció jelenségeire utalni. A feltevések és azok megvalósulásának esetei között bizonyára a legfrappánsabbak egyike a Haeckel által megszerkesztett Lemuria és a benne megjósolt Pithecanthropus!

Amint Haeckel egyre inkább belemerült filozófiai kérdésekbe — és ismeretes, hogy nem kis szenvedéllyel! — ugyanilyen emóciókkal indultak meg az ellentámadások is. Ezen a téren egy fordulópontot meg kell említeni, a század utolsó évét: amikor a Welträtsel, a Világrejtelkek első kiadása elhagyta a sajtót. Tulajdonképpen a már régóta tartó filozófiai előtanulmányok után foglalta ebben össze, illetve terelte egységes mederbe ide vonatkozó elveit. Ez az írása egyben filozófiai program is. A biológia kutatásterületét körvonalazza benne, majd az egzakt és empirikus tudományokat helyezi felsőbbségbe és természetesen ellentétbe az ún. "dogmatikus" tudományokkal.

A könyv sikere páratlan volt, hasonló feltűnést talán csak Darwin műve keltett. Illusztrálására a sokat idézett Cope-i mondatot elevenítem fel (ő volt Haeckel angol fordítója): "Ott láttam az Orkney-szigetek primitív halászáinál, a skóciai és walesi bányászok kezében, Írország katólikus városaiban, Ausztrália birkapásztoraiban és az új-zélandi maorik körében."

Haeckel nem zavartatta magát a mindenféle színű és szintű kritika záporában. Igyekezett — rendszerint hasonló temperamentummal — válaszolni. Az fájt neki, hogy ellenfelei között olyan szellemi nagyságokat kellett felismernie, mint pl. Ranke, Virchow, Bunge, Gutterlet, Paulsen, Nietzsche stb.

A századforduló körül egy kissé visszavonult a filozófia területéről és immár 66 évesen ismét trópusi útra indul. Több hónapot töltött pl. a jávai Buitenzorg botanikus kertben. Az útról hazatérve befejezte és kiadta a "Kunstformen der Natur"-t. Ennél a pompás díszalbumnál kell megemlíteni talán művészi készségét, amely nemcsak munkáinak páratlan illusztrálásában

nyilvánult meg, hanem utazásai során készült festményeiben is, amelyekben izzó színekkel festi le és jeleníti meg a trópusi vagy mediterrán flóra és fauna, de a tájak érdekességeit és szépségeit is.

Nyilvánosan még két ízben szerepelt. 1905-ben a berlini énekekadémia dísztermében tartott népszerű természetbölcséleti előadásokat — még a régi temperamentummal. Másodszor pedig 1908-ban, amikor a "Phyletischen Museum" épületét felavatta. Régi vágya volt Haeckelnek, hogy valamiféle nyilvános intézményt hozzon létre, ahol a fejlődéstörténetre vonatkozó tények, tárgyak, magyarázatok célszerű elrendezésben a nyilvánosság elé kerüljenek. A szükséges anyagiakat különböző adományokból, alapítványokból sikerült összehozni. Haeckel maga a Welträtsel honoráriumát adta bele. Az alapkövet 1907. augusztus 28-án, Goethe születésnapján tették le. Fiatal kora óta rajongott a költőfejedelemért, és semmit nem von le érdemeiből, ha feltételezzük, hogy kissé panteisztikus monizmusának egyik sugalmazóját az említett eszményképben kell keresnünk.

Haeckel egyénisége és "iskolája" természetesen sok szakembert is vonzott. Intézetében dolgozott pl. A. Lang, W. Kükenthal, H. E. Ziegler és említsük meg utódát, L. Plate-t, bár ez utóbbival nem volt sűrűlódásmentes az érintkezése. Nála doktorált pl. W. Kowalewsky, a paleobiológia egyik "alapító tagja" éppen az Equidák evolúciójából, amely téma azóta közismert evolúciós mintapélda lett ("paleontológusok paradéslova").

Ún. nyári szemeszterein magyar hallgatókat is találunk. Ezek egyike volt pl. a Természettudományi Múzeum egykori főigazgatója, Pongrácz Sándor is, aki idehaza több elismerő emlékeztést írt Haeckelről. Ő maga mint a származástan magántanára is képviselte az evolúciós gondolatokat. Nevéhez fűződik az új szemléletű kiállítások megszervezése a 30-as években. Az egykori szenvedélyek reminiscenciái látszanak felvillanni még Rapai Cs. R. (1949) és Boros I. (1970) írásaiban. A vitázó partnerek közül talán Apáthy I. és Francé R. neveit említem meg, akik inkább világnézeti kérdésekben adtak hangot ellenvéleményüknek.

Utolsó nyomtatott műve 1917-ben jelent meg, a "Kristallseelen". Munkabírása ekkoriban még kifogyhatatlannak látszott. R. Hertwighez írt levelelől tudjuk, hogy még nagy tervekkel volt tele.

Mindezek azonban már nem valósulhattak meg. Egy kisebb baleset után, 1919. augusztus 9-én kora reggel csendesen elaludt.

Nem is annyira tárgyi, mint inkább elvi okokból nehéz arra válaszolni, hogy mi az, ami Haeckel munkájából mára megmaradt. Természetesen adatszerűen, sőt százalékosan ki lehetne mutatni azt a tényanyagot, ami a termé-

szetes haladás folyamán elkopott, lemaradt. Ez a természettudományok lényegéhez tartozik. Az a három hatalmas munka (Generelle Morphologie, Natürliche Schöpfungsgeschichte, Anthropogenie) örök helyet biztosít számára a zoológia történetében. Mint Pongrácz mondja: "... valamennyiben egy hatalmas alkotó kéz munkája érvényesül, apró kavicsokat óriási sziklákká hengerget s azokat a kérlelhetetlen igazság érveivel moházza be, hogy ellenálljanak az idők enyészetének."

TÁJÉKOZTATÓ IRODALOM

- Apáthy I. (1908) Haeckel s az ember. Magyar Társadalomtud. Szemle, Pécs, 10.
- Boros I. (1970) Ernst Haeckel a harcós tudós (1834—1919). Természet Világa, 100, 53—56.
- Boros I. (1970) Ernst Haeckel rehabilitációja. Életmű és utókor. Természet Világa, 100, 103—106.
- Entz G. (1900) A természet művészi alkotásai. Természettud. Közl., 32, 557—564.
- Farkas L. (1961) Haeckel és Virchow. A materializmus és az idealizmus harca a biológiában és az orvostudományban. Budapest, Medicina.
- Gombocz E. (1935) Haeckel Ernst (1834—1919). Természettud. Társ. Évkönyve, 91—92.
- Haeckel E. (1862) Die Radiolarien (Rhizopoda radiolaria). Eine Monographie. G. Reimer, Berlin.
- Haeckel E. (1866) Generelle Morphologie der Organismen. G. Reimer, Berlin.
- Haeckel E. (1868) Monographie der Moneren. Jenaische Zeitschr. für Naturwiss., 4, 64—137.
- Haeckel E. (1868) Natürliche Schöpfungsgeschichte. Gemeinverständliche wissenschaftliche Vorträge über die Entwicklungslehre in allgemeinen und diejenige von Darwin, Goethe und Lamarck besonders. G. Reimer, Berlin.
- Haeckel E. (1870) Biologische Studien. I. Studien über Moneren und andere Protisten. Engelmann, Leipzig.
- Haeckel E. (1871) Az emberi nem eredete és törzsfája. Aigner, Pest.
- Haeckel E. (1872) Die Kalkschwämme (Calcispongiae). Eine Monographie. G. Reimer, Berlin.
- Haeckel E. (1874) Die Gastraeatheorie, die phylogenetische Klassifikation des Tierreichs und die Homologie der Keimblätter. Jenaische Zeitschr. f. Naturwiss., 8, 1—55.
- Haeckel E. (1874) Anthropogenie oder Entwicklungsgeschichte des Menschen. W. Engelmann, Leipzig.
- Haeckel E. (1877) Biologische Studien. II. Studien zur Gastraeatheorie. H. Dufft, Jena.

- Haeckel E. (1894) Systematische Phylogenie. Entwurf eines natürlichen Systems der Organismen auf Grund ihrer Stammesgeschichte. G. Reimer, Berlin.
- Haeckel E. (1899) Die Welträtsel. Gemeinverständliche Studien über monistische Philosophie. E. Strauss, Bonn.
- Haeckel E. (évszám nélkül) Kunstformen der Natur. 100 Illustrationstafel mit beschreibendem Text. Bibliogr. Institut, Leipzig.
- Haeckel E. (1905) Világproblémák. Népszerű tanulmányok a monisztikus filozófiáról. Vass, Budapest.
- Haeckel E. (1911) Az élet csodái. 1—2. "Természettudományi Könyvtár", Budapest.
- Haeckel E. (1922) A természet és az ember. Dick. M., Budapest.
- Kriesch J. (1875) Haeckel gastraea-elmélete. Természettud. Közl., 7, 114—115.
- Ostwald W. (1912) Feltalálók, felfedezők, nagy emberek. Világkönyvtár 6, Révai, Budapest.
- Ostwald W. (1922) Bevezetés a természetfilozófiába. Dick M., Budapest.
- Pongrácz S. (1921) Haeckel Ernőről. Állattani Közl., 20, 13—16.
- Pongrácz S. (1921) Megemlékezés Haeckel Ernőről (1834—1919). Természettud. Közl., 53, 321—327.
- Reinke Fr. (1913) Az emberboncolástan tankönyve — nyomán Tellyesniczky Kálmán útmutatásával készült fordítás. Universitas, Budapest.
- Soós L. (1926) Ki a fölfedezője a biogenetikai alaptörvénynek? Állattani Közl., 23, 188—189.
- Uschmann G. (1954) Ernst Haeckel. Forscher, Künstler, Mensch. Urania, Jena.
- Zimmermann Á. (1922) Haeckel Ernő agyveleje. Természettud. Közl., 54, 236—237.

HAECKEL ÉS AZ ELMÉLETI BIOLÓGIA

JUHÁSZ-NAGY PÁL

"Ismerem már a német lélek ingalengését: Ich möchte es haben, ich werde es haben, ich soll es haben. A vágyálmokat rögtön átdolgozzák valósággá: a birtokukká. És ha a valóság ellenáll, csalódnak, megsértődnek, felbőszülnek..."

(Cs. Szabó L.)

1. APOLÓGIA ÉS MOTIVÁCIÓ*

1.1. Ha Haeckelre méltó módon kívánunk emlékezni, két főbb gondolati csapdát kellene, illenék kikerülnünk. Ezek egyike az a fajta "dicsériáda", kritikátlan bálványozás, ami a korai biográfusok (pl. Bölsche, W. May) sok ponton értékes, de gyakran émyegős könyveitől nem kis számú mai szerző véleményéig követhető nyomon. A másik csapda: az a fajta fanyalgás, ami a mai Haeckel-dekonjunktúrában a nem-német orientáltságú tudománytörténészek többségének véleményét tükrözi, akik (mint pl. Harré vagy E. Mayr) még a nyilvánvaló érdemeket is gyakran megkérdőjelezik.

1.1.1. Az előbbi csapdára, a védhetetlen "zu viel" beállításra aligha akad feszélyezően "jobb példa", mint Benedek I. megfogalmazása, amely szerint Haeckel (1) "a biológia utolsó nagy szintétikus elméje volt", aki az evolúcióelmélet lényegét — úgymond —, (2) "nagyvonalú összegzésben átnyújtotta a mi századunknak — azóta is ezen pepecselünk, ennek hézagait foltozgatjuk, jelentéktelen tévedéseit korrigálgatjuk" ("A Tudás Útja", 2. kiadás, p. 256. Gondolat, Bp., 1976).

1.1.2. Arra, hogy (2)-nél mit jelent a pepecselés, a foltozgatás stb., a Vida G. szerkesztette "Evolúció"-sorozat eddigi három kötete is méltó választ ad. Arra, hogy (1) esetében milyen otromba és anti-hisztórikus túlzás-ról van szó, elég, ha — századunk oly sok más nagy szintétikus elméje kö-

*Sajnos, a megadott szűk korlátok között bármely bibliográfia lehetetlen, ami főleg azokat érinti kínosan, akik az elmúlt hetekben Haeckelt és Haeckel-kommentárokat "lélegeztek ki és be".

zül — most csak D'Arcy Thompson, Haldane, Dobzhansky, Waddington munkásságát idézzük fel. Arra, hogy mennyire nem jelentéktelen tévedések "korrigálására" kell gondolnunk, kitűnően reflektál Ve-kerdi új (az "Evolúció-IV." kötetét megnyitó) esszé-remeklése, ami már az alcímében is sokatmondó: "a posztmodern antiszintézis felvonulása".

1.2. Noha magam korántsem vagyok híve a napjainkban oly otrombán praktizált "deheroizálásnak", a "dezilluzionálás" megannyi balfogásának, két fő okból igenis egy "fény-árnyék" beállítás pártján állok. Az egyik ok: az igazán nagyoknak ez nem árt, de használ; a szobor épp ettől elevenedik meg, lép le talpazatáról, áll szóba velünk. A másik ok: az igazi ünneplés — bármely ünnep! — nem egy mennyei Olümposz, vagy Felhőkakukkvár lakóiért van, de értünk; nekünk kellene — ha tudunk — okulni belőle, nemesednünk tőle.

1.3. Ne féljünk tehát egy pro- és kontra- beállítás, egy retrospektíve és mentálisan értett "haben und sollen" mérlegelés kockázataitól! — még akkor sem, ha a megadott keretekben csak egy itt-ott szükségképpen torzító, "pars pro toto" érvelésre nyílik is lehetőségünk. Bízunk abban, hogy az érvek kiszülési pontján legalábbis felsejlik az az igazán jelentős alak, aki magáról és koráról nekünk is nagyon sok fontos dolgot mondhat el — de immár frázisok nélkül.

2. PRO ÉS KONTRA; HABEN UND SOLLEN

2.1. Gondoljunk először a természetbúvár, a taxonómus Haeckelre; arra az önmagában csodás pályára, ami az első Radiolaria-monográfiától (1856) oly sok csoport (pl. Hydromedusae, Syphonophorae etc.) "belövésén", a Monera, a Protista szisztematikai felfedezésén át az "Anthropogenie" vagy a "Challenger-jelentés" bravúráig, sőt, még tovább, a "Systematische Phylogenie" monolitikusan szuggesztív képéig, vagy a "Kunstformen der Natur" megéjtő esztétikumáig ível.

2.1.1. A "haben" érvei itt oly erősek, egyértelműek — hisz' nem kisebb vívmányokról van szó, mint az Avertebrata-lények új s viszonylag teljes áttekintése, a törzsfá-módszer bevezetése, immár az állatvilág egészére kiterjeszhető és praktizálható filogenetikai szemlélet, összekapcsolva egy hatékony komparatív-morfológiai látásmóddal —, hogy az a gyanúnk: a fanyalgó kritikusok egy része vagy soh'sem olvasta e sok ponton ma is izgalmas könyveket, soh'sem gyönyörködött a haeckeli illusztrációk szépségében, vagy — ami a legrosszabb; ami Lamarck esetében is történt —, nem hajlandó meglátni a "felemás ideológusban" a hatalmas erejű alkotót.

2.1.2. De vajon mi igazán "felemás" a filogenetikusként Haeckelben? Főleg az, hogy a teoretikusnak tartott mester már akár abban is jócskán "anti-teoretikus" beállítottságú, hogy szinte teljesen hiányzik belőle nagy kortársai (mondjuk, Darwin, Virchow, Wallace) módszeres kételkedése, az "omnia dubitanda" kartézianus szelleme; jóformán nem ismeri azt az iszonyúan szakadékos terepet, ami a mindenkori "teória" és a valóság között húzódik. Elméjében fel sem merül a "rossz rendszer", a szisztematikai artefaktum lehetősége; csalahatatlannal közli: mi "progresszív", mi nem, mi "filetikus", mi nem. Számos passzusáról mutatható ki: nem látja elég jól az "idealizáció" (pl. a törzsfá) s a realitás viszonyának lényegét és így a mi — szükségképpen "gyenge" — taxon-dobozaink és a természet "ravasz ezerarcúsága" közti eltérések velejét sem. A "Challenger-anyaggal" kezében van — az inherens variáció, a diverzitás valamilyen megsejtésének lehetősége; mégis ezt a lehetőséget más "Challenger-megbízottak" kezdik el majd kiaknázni. Amint D'Arcy Thompson nagy művéhez ("On Growth and Form") fűzött egy izgalmasan ramifikált lábjegyzet-anyagban kimutatja: a rajzoló, a kitűnő illusztrátor feltünteti a Radiolaria-k apró "szimmetria-sértéseit", de a teoretikust ez a később egyre izgalmasabbá váló probléma teljesen hidegen hagyja. Hogy ez szükségszerű? Hogy a monomániákus — sőt, néptanítói, prófétai — filogenetikusként el kellett rohannia minden olyan "deviáció" mellett, ami nem illett az elképzelései fővonalába? Minden bizonnyal! — s mégis valahol itt, ezen a ponton vehető észre az a leglényegesebb különbség, ami Haeckel és Darwin mentalitását legjobban polarizálja. Darwin, a változatok szerelmese, az örök óvatos, a nagyon is áttételes feltevések megfogalmazója valósággal irtózott attól, hogy "jumping into the conclusions" — Haeckelnek ez a mindennapi kenyere volt. (Mi más a "monizmusnak" elkeresztelt hülozoista-panteista vallás, mint egy kolosszális "jump"? Vajon el tudnánk-e képzelni Darwint a vallásalapító próféta szerepében?)

2.2. Gondoljunk most a — sensu lato — morfológus, ill. morfogenetikusként Haeckelre, valamint olyan jelentős művekre, mint a "Generelle Morphologie" (1866), a "Naturliche Schöpfungsgeschichte" (1868), az "Entwicklungsgeschichte des Menschen" (1874) — és így tovább.

2.2.1. E könyvek alaposabb tanulmányozásánál a ma figyelmesebb olvasóját valóban egyszerre futja át a pro és kontra érvek, érzések igen bonyolult árama. Mennyi szerencsés meglátás és megfogalmazás, valóságos nómenklátori bravúr; s milyen szisztematikusan visszaélés a fogalmakkal! Milyen analógiás bátorság kellett a közel száz éve lappangó "alaptörvény", a gasztrulációs hipotézis kimondásához; s milyen gyatra a verbalizáció, a "Rekapitulation"

félreértettsége, vagy az, hogy mindez korántsem illik az élővilág egészére (pl. a növényi embriológiára)!

2.2.2. Folytassuk? Ugyan minek? Napjaink nem elfogult biológusa számára e művekből — s "szellemi környékükből", pl. a kiterjedt pamflet-irodalomból — a "haben" hatalmas érvei csakúgy kirajzolódnak, mint a "sollen" kínos adósságai is. Az előzőek: az általánosított morfológia igazi megteremtése; az infraindividuális szintek sikeres együttlátása; mindazon problémák — bármely ügyetlen, de úttörő — exponálása, amelyek az élet keletkezésével kapcsolatosak. Az utóbbiak: Haeckel végzetes értetlensége Pasteur, Virchow, Weissmanns az "ős-genetikusok" (pl. Galton) "háttérmechanizmusokat kereső" okoskodásaival szemben — nem is beszélve a fejlődésmechanika korai eredményei (Roux) kapcsán elejtett méltatlan megjegyzéseiről.

2.2.3. És itt, valahol ezen a ponton kereshető a mai — sok szempontból: igaztalan — Haeckel-dekonjunktúra egyik magyarázata is. Ami e művekben — mondjuk, a Haeckel-féle embriológiában — valóban maradandó, az már réges-rég mint tankönyvi közhely épült be az ismereteink kelléktárába (sokszor a mester nevének említése nélkül). Ami viszont e művekben vitatható, balgaság vagy "hiánycikk", azt az olyan rossz, elfogult művek is ébren tartják, mint Farkas L. irritáló könyve ("Haeckel és Virchow"; Medicina, 1961). Arra pedig, hogy az utókor judíciuma milyen furcsa, de jellemző utakon munkál, ismét a Haeckel—Darwin párhuzam felidézése szolgálhat érdekes tanulságokkal. Tudjuk, hogy az 1982-es Darwin-centenárium szinte minden ponton Darwin hatalmas, tudományos (!) diadalát hozta — még a magukat "anti-darwini" címkével illető szerzők részéről is. Efféle diadalra a jelen évfordulónak, ünneplésnek még kilátása sincs. Ennek egyik, de tán legfőbb magyarázata az, hogy — a nagyon "aktualista", a jelen feladataihoz túlzottan tapadó Haeckellel szemben — Darwin úgy "futurista", a jövő embere, hogy a sejtéseiben, szuggeszcióiban mintegy valóban "megelőlegezte" a napjainkig tartó-bonyolódó tudományfejlődést. Arra pedig, hogy itt mennyire s elsősorban attitűdbeli különbségekről van szó, talán elég annyit mondanunk: Darwin csak annyiszor tévedett Haeckelnél kevesebbet, mint amennyiszor kevesebbet írt, ám az utókor számára — úgy látszik — nem a "pángenezis-elmélet" kivételes ostobasága, hanem elsősorban az az érdekes, ahogyan a nemesítői adatokat oly szenvedélyesen gyűjtő-számon tartó Darwin számára a "genetikai háttér" állandóan "szót kért", jelen volt, előre mutatott. Tömören polarizálva: míg Darwinban folyton egy "kreatív hiányérzet" munkált, addig Haeckel a maga eszmei konstrukcióit — tán irigy-

lendő, de végzetes magabiztossággal — túl véglegesnek, túlságosan lezárt-
nak tekintette.

2.3. De vajon e ponton nem igazságtalan-e megfelejtkeznünk a jövőbe né-
ző, az igazán "futurista" Haeckelről? Nem erre mutat-e az onto-fileti-
ka mai reneszánsza? Nem ilyen-e Haeckel — bár "embrionális", de úttörő
— tudományfilozófiája? — ami szerint az egyes diszciplínákat nem a tények
jellege, nem is a ténymegszerző műszerek-módszerek sajátosságai, hanem a szem-
léletmódjuk különbözteti meg egymástól.

2.3.1. Hadd utaljak külön egy speciális, de fontos példára: arra, hogy
Haeckel az ökológia igazi keresztapja ("Generelle M."). Mivel — ahogyan
okos etimológiával kimutatja —, az "oikosz" szó nemcsak házat, lakó-, ill.
élőhelyet, hanem alkalmasint háztartást (Haushalt~budget) is jelenthet,
Haeckel analógiás víziójában már nagyjából azt a tudományt ("a természet
okonómiáját") előlegezi meg, amivé ténylegesen csak közel száz év múlva, az
IBP keretében vált, s amelynek fő programja: az anyag- és energia-fogalom
kutatása.

2.3.2. Ha lenne rá idő s tér, gondosan lehetne s kellene elemezni az IBP
lényegi s fatális tévedését, a "pánenergeticizmust", de azt is, hogy ezt a
gondolati csapdát már W. Ostwald is "kihelyezte", aki — különösen mint
a "MONISTENBUND" elnöke (1910—15) — nemcsak a társadalmi, hanem a szellemi
jelenségeket (sőt magát az egyre hírhedtebbé váló "Geist" fogalmát is) pusz-
tán "energetice" kívánta értelmezni — a szingularista vulgarizáció legna-
gyobb dicsőségére. És eme kritikus kérdések pusztá érintésével már ismét
nyakig úszunk a monizmus nevű pszeudo-vallás, a "Világrejtélyek", a "Gott-
Natur", a "Lebenswunder" zavaros áramában — azaz, aligha kerülhetjük meg,
hogy legalább néhány vitaindító kérdés erejéig fel ne vessük a mai Hae-
ckel-értékelés legérzékenyebb problémáit.

3. PROVOKATÍV KÉRDÉSEK

3.1. Haeckel nagysága vitathatatlan (a "szellemi nagyságrendje" a-
zonban annál inkább). Nagy ő, nemcsak mindabban, amit "megcsinált", alkotott
(s ez önmagában — "temérdek"), hanem úgy is, hogy valóban Haeckel te-
kinthető a századelőn összeálló általános biológia ("Allgemeine Biologie")
igazi atyjának. Ha viszont tudomásul vesszük, hogy a mai drasztikus-epés
kritikák zöme nem a "faktuális tudóst", nem a hatalmas vákuum-régióban si-
kerrel dolgozó kiváló felfedezőt, hanem az általánosítások emberét (a Be-

ne de k-féle "nagy szintetikus elmét") veszi célba, elsősorban az elméleti biológia lőállásaiból, aligha kerülhetünk meg egy sor, nagyon nehéz, messze vezető, itt csak épp érinthető kérdést. (Remélhető, hogy a pontosabb s részletesebb válaszok egy részét a sorra kerülő vita bontja ki.) Mi vajon az általános és az elméleti biológia viszonya, lényegi különbsége? Mennyiben tekinthető Haeckel ez utóbbi exponensének is? Vagy épp ellenkezőleg ő — s nem kis részben az ő nyomán kialakult tradíció — akadályozta meg a közelmúltig azt, hogy az elméleti biológia a német nyelvterületen is tanyát verjen? Vajon ez a — nemcsak nyelvi, de mentalitásbeli — szkizma nem tart-e napjainkig? Vajon nem épp ez a szkizma-e a modern Haeckel-értékelés igazi kulcsa?

3.2. Valóban a századunk kultúrhistóriájának aligha van feltűnőbb rejtélye annál, hogy míg a modern elméleti fizika (gondoljunk olyan Haeckel-kortársakra, mint Boltzmann, Mach, Planck, Einstein, Hilbert stb.) először épp a német nyelvterületen bontakozott ki, addig ugyan ez a nyelvterület több mint fél évszázadon át makacsul utasította el az elméleti biológia egyre fejlődő modelljeit (pl. az evolúcióelmélet új eredményeit), s mindazt, amit e modellek implikálnak.

3.2.1. Ha e kontraszt rejtélyébe egy kicsit is bele akarunk hatolni, nem tehetünk mást: szembe kell néznünk egy másik, nem kisebb s jóval régibb — több mint kétszáz éves — rejtéllyel is; nagyjából azzal, hogy Kant kritikizmusának okos vívmányait sokáig legkevésbé épp a germán "kultúrkör" apercipialta. Most — pusztá utalásként — talán elég felidézünk, hogy a kritikizmus vízvázalója után jelenik meg a rémes "Farbenlehre" (s Goethe véleménye arról, hogy Newton nem más, mint egy ostoba kalkulátor); ez után kezdődik el a zavarosabbnál zavarosabb "természetfilozófiák" áradása (Oken, Hegel, Reinke etc. részéről), amely — elég sajnos — napjainkig tart.

3.2.2. Ha tetszik, ha nem, tudomásul veendő: a "haeckelizmus" aligha más, mint e zűrös áradás egyik tetőzése — igen jellemzően egy pótvallásba torkolltatva. Anélkül, hogy megismételnék a már hangoztatott kontra-érveket (vö. pl. 1.2., 2.2.), röviden reflektálnunk kell a monizmus ismeretelméleti aspektusára! — e reflexió nélkül még csak reményünk sem lehet arra, hogy a provokatív kérdéseinkre bármilyen választ kapunk.

3.3. Mi a monizmus episztemiológiai ellentéte? Természetesen — ne féljünk a szótól! — a pluralizmus. A fenti érvekhez csatlakozva, megfigyelendő, hogy a modern elméleti fizika épp azért és szükségképpen — quod libet: kényszerűségből — pluralista (főleg abban, ahogyan a relativitáselmélet, a

kvantummechanika megjelenése óta az egyes "reprezentációs lehetőségek hatáskörét" keresi), mert a különböző kölcsönhatás-féleségek elég egységes tárgyalhatósága: egyelőre még mindig csak jámbor óhaj, avagy szép álom. (Épp ezért, az a modern elméleti fizikus, aki a mai, reális elemzési lehetőségeket a vágyaival-álmaival egy haeckeliánus kulimászba keverné össze, valóban méltó lenne arra, hogy a Monistenbund nevű szabadkőműves testület tagja legyen.)

3.3.1. De ha a fizika becsületes egyesítése sem más egyelőre, mint dezi-derátum, mennyire igaz mindez a biológia sokkal bonyolultabb és jóval diffúzabb anyagára! Haeckel és az általános biológia legnagyobb tévedése pont az a hiedelem volt, hogy minden új ismeret egyetlen (!) — valóban "unicitással kitüntetett" — "képbe" illeszthető, ha szüntelen korrekciók árán is. (Ez az, amit — gondolom —, Benedek "foltoztatásnak" titulál.) Nem vették észre a legfontosabbat; azt, hogy eleve számos képpel — jobban mondva: sokféle mentális konstrukcióval — kell dolgoznunk, s ekkor az egységesítés tisztességes — nem extrapolatív stb. — feltételei immár csak akkor lehetségesek, ha valóban sikerül az egyes konstrukció-féleségekben (pl. a modell-családok, modell-rendszerek között) az "igazán közöset" felfedeznünk.

3.3.2. Az elméleti biológia igazi tudatosulása — oly hosszú előkészület s felvonulás (lamarckizmus, darwinizmus, weissmannizmus) után — éppen azért köthető először a Mendel-reneszánszhoz, mert a mendelizmusban vált elsőként plastikusan világossá az: mit jelent egy formális konstrukció (a Laplace-féle klasszikus valószínűségi mező) és a biológiai interpretáció igazi egysége. Ha pedig valaki veszi magának a fáradságot és rácsodálkozik annak a gazdagon remifikált modell-genezisnek legalább néhány fontos pontjára, amely a klasszikus mendelizmustól napjainkig ágazik-bogazik, már tűrhető képet kap a szükséges pluralizmus lényegéről — különösen akkor, ha a fenti körképet még a saját gusztusa szerint más szakterületek (mondjuk: a morfológia, a fiziológia, az ökológia) modell-geneziseivel is kapcsolatba tudja hozni.

4. NÉMI ÉRTÉKELÉS ÉS KITEKINTÉS

4.1. Mi történt tehát? Mi ütközött össze mivel? Hogyan jellemezhető igen tömören a poszt-haeckeliánus fejlődés lényege? Miért és miben volt kénytelen az általános biológia egyre több teret átengedni az elméleti biológiának?

4.2. Ez utóbbi kérdésekre adandó bármely értelmes válasznak a megismerés eszközeinek viszonyát kell központba állítania. Elég könnyű belátnunk, hogy

e viszony komolyan vételével nemcsak a "tisztán verbális" ütközik össze a "részben formálissal", hanem elsősorban egy Prokrustes-szingularizmus egy Proteus-pluralizmussal. Napjaink elméleti biológusa — mi mást is tehetne? — epistemologice pont azért pluralista, mert alázatosan tudomásul veszi: az egyik konstrukciója (modellje) a valóság inkább ilyen vagy amolyan aspektusára érzékeny (ill. érzéketlen), mint a másik. Ha elég nagy s gazdag modell-repertoárja van, remélheti, hogy a valóság egyre több aspektusáról kap hírt, de a gondjai az egyes "képei" illesztésével, a reprezentációs hatáskörök megkeresésével csak nőttön-nőnek.

4.3. E súlyos nehézségeket némileg konkrétizálandó, válasszuk most mintegy "értékelési régióknak" azt az óriási szakterületet — a rendszertan, a paleobiológia, a makroevolúció-kutatás stb. terrénját —, amelyhez Haeckel legjelesebb eredményei kötődnek, és ha csak futtában is, fontoljuk meg: miben s hogyan ütközik össze a "régi" az "újjal".

4.3.1. A haeckeli program: a törzsfá (singulare tantum!) szívós "tökéletesítésével" egyre jobb képet kapunk a filogenezis lényegéről. (Csakhogy: igen sokféle törzsfá létezik és fontos! Csakhogy a kladogram, a dendrit, a "New Systematics", de különösen a numerikus taxonómia óriási eszköztára eleve mást "tud", s részben mást is mond ugyanarról, mint a klasszikus törzsfá.) A haeckeli program háttér-sugallata: a természet a törzsféjlődésben egy-két igazában nagyon egyszerű "alapelvet" bont ki, valósít meg. E sugallat eredménye: a közelmúltig domináns "vagy-vagy"-ok szinte szektáriánus szingularizmusa; például nálunk a Soó "difiletizmusa" és a Greguss "trifiletizmusa" között dülő, végső soron komikus csatározás, ami évtizedekig borzolta a naivabb lelkeket. (Csakhogy miért ne lehetne a törzsfá egyes pontokon di-, másutt meg trichotomikus? — ugyanúgy, ahogy a mono- és poli-filézis, a mono- és politopia alternatívákban sincs helye az "egy-receptes" kizárólagosságnak.) Vajon a tudomány embere nem akkor vét-e legdurvábban a maga kartéziánus hitelveinek szertartásrendje ellen, ha eleve összetéveszti a természet "sok-trükkös" bonyolultságát a saját primitívságával, a megértésének korlátaival? Ha összehasonlítjuk az "Anthropogenie" naiv-szinguláris szuggesztíóját azokkal a roppant komplikált és rengeteg ponton bizonytalan reprezentációkkal, amelyekkel a Hominidae-evolúció mai kutatója kénytelen dolgozni, akkor már elég világossá válik, hogy napjainkban mennyire nem pusztán a régi "ősember-képzet" toldozgatásáról-foldozgatásáról van szó.

4.2.2. De a szingularizációs "vagy-vagy"-ok megdőlése (akár a legősibb növény-állat alternatívában) még kifejezettebb és "objektívebb" lett az elmúlt tíz-tizenöt évben; azóta, hogy a Margoullis—Whittaker-féle

endoszimbiózis-feltevés alapján hatalmasan fellendült a makrotaxonómia revíziója (újabbán már ll regnum létezése is plauzibilis), illetve azoknak a — mikromorfológiai, biokémiai stb. — evidenciáknak az alaposabb kutatása, amelyekkel az "ős-regnumok" keletkezését értelmezni lehet. Emeljük ki az új szempontok, eredmények sokaságából most csupán azt a lehetőséget, hogy az evolúció korábbi szakaszaiban korántsem csak a haeckeli homológia, a "progresszív-filetikus leszármazás" lehetséges, hanem — pl. bizonyos "proto-organellumok" átkerülésével — valószínűsíthető a "laterális-retikulációs" evolválódás is.

4.3. De vajon egy ilyen — szükségképpen bonyolult — récens körképben hol fedezhető fel a haeckelizmus aktualitása? Azt hiszem, először is az olyan emocionális vonzatú mozzanatokban, amilyen a nagy úttörő bátorsága és teljesítménye előtti tisztelet, vagy amilyen az őszinte biológusban ma is állandóan ott bujkáló nosztalgia a H a e c k e l-féle "egységes kép" iránt. (A lényeg csak az, hogy a vágyainkat ne próbáljuk "elteoretizálni"!)

Másodszor fontoljuk meg, hogy — már csak didaktikai okokból is —, az általános biológia a maga helyén (!) ma sem kevésbé fontos, mint az elméleti biológia. (Amennyire kézenfekvő, annyira kidolgozatlan az a didaktikai forma, hogy a biológus szakképzés egy — a nehézségeket épp csak izgalmasan megsejtető — általános biológiával kezdődjék és egy vissza- és kitekintő elméleti biológiával záruljon le.)

Harmadszor vegyük észre, hogy a haeckelizmus aktualitása ma is mindenütt élő ott, ahol a jelenségek, a folyamatok eléggé kontrasztosak ahhoz, hogy beérhetjük valamilyen relatív szinguláris értelmezéssel; ott, ahol megelégedhetünk azzal a neo-naturalista, kissé naiv, de esztétikai örömben bővelkedő szellemmel, amit a "Die Alte und Neue Naturgeschichte" sugall. (Dixi et salvavi animam meam.)

A MONIZMUS: AZ EGYETLEN ÉS GENETIKAILAG EGYSÉGES VILÁG FELISMERÉSE

DETRE CSABA

Magyar Állami Földtani Intézet, Budapest

Haeckel születésének 150. évfordulóján Haeckelről a filozófusról kívánok megemlékezni. Ő volt az, aki az őseredetű monista filozófiai irányzatot explicite filozófiai rendszerként hirdette, sőt, e világnézetet rajongóan vallássá magasztosította.

Az evolúció-tan, amennyiben univerzálissá extrapoláljuk, az általános genezis tanává nő fel, s mint ilyen valóban a vallási tanok leglényegesebb mozzanatait hordozhatja magában. Haeckel volt az első, aki a Darwin-nal induló tudományos elméletet universalizálta, s éppen ebben látta a tudomány és a vallás közti összekapcsolódás lehetőségét.

Ezt az állítólagos veszélyt ismerték fel a rövidzárlatos vulgármaterialisták, valamint pozitivisták, akik a tudományt attól féltették, hogy a vallás számára argumentumként fog szolgálni. A haeckeli extrapolációt "vulgárevolucionizmusnak", "szociáldarwinizmusnak" bélyegezték, s e fenyegető veszély kiküszöbölése végett az evolúciót csupán az élővilág jellegzetességének tartják. A Világ szerintük csak "változik", törölték a Világból a magasabb és alacsonyabb rendűség létét, számukra csak több és kevesebb létezik. Ennek egyik szélsőséges megnyilvánulása a simpsoni [2] modell is, amelyben a párosujjú patások kerültek az élővilág fejlettségbeni csúcsára.

A magasabbrendűvé válást posztulátumként kell felfognunk. Minden mássá válásnak, mozgásnak a fejlődése szintbeliségét tekintve csak két iránya lehetséges: magasabbrendűvé vagy alacsonyabbrendűvé válás. Minden mozgás mássá válás e két irányban. Ennek mennyiségi oldala: a többé vagy kevesebbé válás. Amennyiben valamely rendszer nem válik magasabb, illetve alacsonyabb rendűvé, úgy ez a rendszer mozdulatlan.

A gondolkodó ember már nagyon korán felfedezte, hogy a körülötte létező világ egymással komposzibilis részekből áll, s ezért ezek a részek egymás-

ra hatnak, egymással kölcsönhatásban állnak, egyik a másiknak része. Ezt fejezi ki Xenophanész "en kai pan"-ja: egyetlen foglalatban az összes létező. Ezt később Parmenidész ad absurdum vitte azzal, hogy szerinte csak az egység létezett, különbözőség nem. Meglehet e felfogásnak ugyancsak az eleatáknál megvolt az ellenlábás felfogása is, a különbségek abszolutizálásával. (Zénóni apóriák.) Az eleaták ellentmondása csaknem két és fél évezred elteltével nyert feloldást, Hegelnél, a folytonos és diszkrét dialektikájával.

Haeckel is utal rá, nem létezik abszolút különbség az Univerzum részei között. Bármely két rész között mindig megtaláljuk a közös alkotót. Ez eklatáns bizonyítéka minden rész közös eredetének, "vérrokonságának". A modern természettudomány a Világ totális komposzibilitásának bizonyítékait Haeckel óta hatalmas mértékben tovább gyarapította.

Az Univerzum egyetlen, genetikailag egységes, és végtelenül sokféle, azaz végtelen rendszerhalmazként együvé tartozó. E három meghatározottság egymásból következik.

Ennek felismerése a xenophanészi "en kai pan"-tól a parmenidészi tömör, homogén gömbön, majd G. Brunón át Schellingig vezetett, amely felismerés során kibontakozott az egységbe foglalt végtelen sokféleség.

Haeckel a monisztikus világmodellnek evolúciós, genetikai magyarázatot adott, meglehet ez még az ő idejében, különösen a szervetlen világban, csak ködösen volt argumentálható. Megalkotta a "Gesetz von der Erhaltung der Substanz" törvényét, amely egyesíti az anyag megmaradásának s az energia megmaradásának törvényét. E két alábbi: "Erscheinungen eines einzigen Weltwesens der Substanz." Azonban Haeckel is beleesik a szokásos csapdába, aminek nem látja a végét, azt végtelennek nyilvánítja. Így lett nála a fényből és az elektromosságból "Weltaether".

Haeckel felismerte, hogy az evolúció, az olyan valamiből valamivé válás, amely során szükségszerűen magasabb és magasabb rendű létezők jönnek létre, univerzális folyamat, s csúcsa az Ember. Számára még ismeretlenek voltak az evolúció prebiotikus szakaszai, de ő volt az első, aki az egész élővilágot egységes evolúciós törzsfába rendezte. Ami számunkra már konkrét, argumentált természettudomány, az még számára jórészt metafizikai spekuláció volt, de mint nagy és bátor szellem merte kijelenteni: "Die principielle Einheit der anorganischen und organischen Natur, sowie ihren genetischen Zusammenhang, halte ich einen fundamentalen Hauptsatz unseres Monismus."

A tudomány fejlődése, az emberi ismeretek extenzív és intenzív elmélyülése, egyre erőteljesebben teszik lehetővé az Univerzum, az Anyag mint

egyetlen szubsztancia egységes genetikai törzsfájának felvázolását. Az egy-
másból származó organizációs szintek a Törzsfá egyes nagy szakaszai, s vala-
mennyi létező az egységes Törzsfá ágai.

A törzsfá-modellt mozgásában, az ágak egymáshoz való viszonyában, azaz a
dialektika szemszögéből is vizsgálunk kell. A törzs mindenkori utolsó elá-
gazásakor a két ágnak meg kell "küzdenie" azért, hogy melyik maradjon az elő-
revivő, a magasabbrendűség felé növő, a progresszív. Ez a küzdelem, a kez-
detben egyenrangú progresszív és regresszív ág között lényeges, döntő hajtó-
erő a további progresszív fejlődéshez. Az utolsó két ágat szülő ág, az utol-
só és első számú regresszív küszöbvé válik. A mindenkori progresszív regresz-
zív küszöbei, tehát azok az ellennyomások kényszerhatások, melyek őt a to-
vábbi felemelkedésre serkentik, mindig "rangbeliek". Az egyetlen progresszív
ág mellett mindig ott van a legmagasabbrendű regresszív ág is, amely "szülő-
anyja" és "elválaszthatatlan életpárja" is egyúttal.

Az Emberiség büszkén ismeri fel abszolút kitüntetett helyét az Univer-
zumban: mindenkinek felett áll, minden kölcsönhatásban ő a domináns fél, ismer-
eteiben és hatalmában még soha nem ütközött áthatolhatatlan akadályokba. Az
egyetlen potenciális veszély számára, csak ő önmaga.

Egyetlensége és legmagasabbrendűsége először itt a Földön vált nyilván-
valóvá. Pluralitásának védelmezői ekkor a feltételezett Többit, a Földön kí-
vülre helyezték. Az emberi ismeret azonban az egyre távolabbi és távolabbi
kozmosz terekben is hiába keresi őket. Az Emberiség által felhalmozott va-
lamennyi tudományos ismeret az Emberiség egyetlenségének bizonyítéka. Fontos
itt hangsúlyozni a logikai érveket is: a velünk egyazon kategóriába sorolha-
tó, végtelen sok emberiség a homogén, anizotróp Univerzum abszurdumához ve-
zetne, amelynek így részei sem lehetnek. Végtelen sok evolúciós folyamat u-
gyanazt a részt produkálta volna. A véges számú emberiség pedig finitizmust,
előre meghatározottságot feltételezne. Ha ugyanis az Emberiség egyik krité-
riuma az, hogy olyan rendszer, amely előtt nincsenek evolúciós, környezeti
akadályok, bármely más rendszerrel szemben kölcsönhatásaiban domináns, akkor
több ilyen rendszer kizárná egymást. Az Emberiség monotípus, csak ilyen po-
tenciálisan végtelen emberiséget ismerünk. Bármely olyan rendszer, amely nem
felel meg ennek a kritériumnak, nem sorolható be az "Emberiség" kategóriába!

A véges számmal szemben felmerül az a kérdés is, miféle determinátor ha-
tározta volna meg ennek számát?

Ismereteink mindig csak a hozzánk legközelebbi, azaz a mindenkori "csúcs
közeli" organizációs szintekre terjednek ki. Az ismeretek előrehaladása egy-
re mélyebb és mélyebb organizációs szinteket tár fel. Azaz extenzíve az Em-

bertől egyre távolabbi, intenzíve pedig az Emberben egyre mélyebben benne lévő organizációkat ismerjük meg. Valamely rendszer magasabbrendűségének vagy alacsonyabbrendűségének egyetlen mértéke csak maga az Ember lehet. Ez a prótagoraszi "pantón chrématón metron anthróposz" abszolút esete.

A szintbeli elkülönülés még több-kevesebb biztonsággal megállapítható az Emberhez közeli, magasabbrendű élőlények esetében. Azonban egyre inkább bizonytalanná válik az alacsonyabbrendű élővilág irányában, s még fokozottabban az élettelen organizációs szintek esetében.

Szimbolizáljuk az emberi társadalmat egy robogó járműként. Az út melletti fák gyorsan elsuhanak. A távoli hegyek már nagyon lassan maradnak el, s rövidebb ideig még állónak is tűnnek.

Az Emberiség előtt adott a végtelen tér, a végtelen idő, a végtelen magasrendűséghez vezető út. Az Emberiség az Univerzum evolúciós törzsfájának törzsén helyezkedik el, amely a végtelen múlt végtelen alacsonyrendű minőségétől, a végtelen jövő végtelen magasrendű minőségéig vezet. Az Univerzum valamennyi, végtelen sok minősége e Törzsből származik, e Törzsfa végtelen sok, de véges ideig élő ágaként. A Törzsfa mindenkori csúcsán helyezkednek el azok a minőségek, amelyekből az Emberiség közvetlenül származott, s a jövő csúcsai azok a minőségek, amelyek az Emberiségből származnak. A csúcs-minőségek tehát végesen létezők, potenciálisan minduntalan véges ágak, de minduntalan képesek létrehozni a következő, a magasabb szintre lépő új csúcs-minőséget, s így egy örök sorozat láncszemei.

A haeckeli prófécia hús és vér modellje: a Világ egyetlen genetikai törzsfája, csúcsán az Emberrel, alatta a végtelen múlt, a végtelen Törzs, végtelen sok véges ágával. Felette pedig a végtelen magasra növő Törzsfa végtelen dűnámisza.

I R O D A L O M

1. Haeckel E. (1900) Der Monismus als Band zwischen Religion und Wissenschaft. Glaubenbekenntniss eines Naturforschers. 9.—10. Auf. G. Strauss, Bonn.
2. Simpson, G. G. (1962) Principles of animal taxonomy. Columbia Univ. Press, New York—London.

AZ ÉLŐVILÁG DINAMIKUS EVOLÚCIÓS TÖRZSFA MODELLJE

DETRE CSABA

Magyar Állami Földtani Intézet, Budapest

AZ ÉLŐVILÁG MONISZTIKUS EVOLÚCIÓS TÖRZSFÁJA

Az élővilág fejlődéstörténetét legszemléletesebben egy Fejlődési Törzsfával szimbolizálhatjuk, mint ahogyan azt először a "kladológia" atyja, Haeckel is tette. A "kladológia" Haeckel óta hatalmasat fejlődött (vide: Kordos L.), de mindvégig megmaradt a fenomenológiai keretek között.

Az élővilág evolúciójának egységes törzsfával történő szimbolizálását az teszi lehetővé, hogy monogén rendszer, tehát elvileg visszavezethető, egy olyan rendszerre, amelyből az egész kifejlődött. E koncepció érveinek felsorolása meghaladná a dolgozat kereteit, de ugyanígy az ellenérvek felsorakoztatása is, meglehetősen meggyengültek.

A Monisztikus Fejlődési Törzsfának a Főtörzse az a fejlődési láncolat, amely a legegyszerűbb organizmusból (Prótobiosz) indult ki, és a Homo sapienshez vezetett. A Főtörzs a leggyorsabb evolúció vonala. A Főtörzsből elágazó valamennyi fejlődési ág, a Főtörzshöz, mint abszolút evolúciós dinamizmushoz viszonyítva, regresszív, kiháló ág. Ezzel szemben az abszolút értelemben vett progresszív ág, a Főtörzs az, amelyik nem hal ki, s amelynek csúcса jelenleg a Homo sapiens társadalma, mint a Biosz plérómája, totalitása. Csak ez az egyetlen biológiai faj volt képes alapvetően magasabbrendű organizációs szintet létrehozni, a "társadalmi mozgásforma" szintjét.

Nem kell azt bizonygatnom, hogy olyan fogalmaknak, mint magasabbrendű, alacsonyabbrendű, progresszív, regresszív, abszolút mértéke csak az Ember lehet, eleve anthropometrikus fogalmak.

A Homo sapiens nem jelent metafizikus evolúciós végpontot. Az Anyag Egészének Evolúciós Törzsfájában az Univerzális Főtörzs végtelen növekedésének

egyik véges epizódja csupán, melynek megvan az a dűnamisza, hogy megszüljön a következő, már magasabbrendű epizódot. Azonban az emberi társadalomnál bármely magasabbrendű organizációs szintnek, "alapvető minőségnek" strukturális elemként, noha módosítva, magában kell foglalnia a társadalmi organizációs szintet is, mint ahogyan az emberi társadalom is magában foglalja a biológiai, és ebben a hierarchikusan egymásra épülő különféle szervesen szervezett szinteket is. Azok a progresszív alapvető minőségek, epizódok, amelyek éppen azáltal progresszívek, mert képesek beépülni olyan struktúrákba, amelyek magasabbrendű organizációs szintet produkáltak. Ezzel, meglehetősen az újabb és újabb magasabbrendű struktúrákhoz minduntalan alkalmazkodva és megváltozva ugyan, de eternizálódni képesek.

Az Evolúciós Törzsfa Főtörzsével szemben, amely a biológiai minőségek progresszív láncolatát jelképezi, valamennyi regresszív mellékág egy olyan minőséget (taxont, populációt vagy cönózist) jelent, amely eleve véges. Valamennyi taxon, populáció, cönózis véges ideig él. Ugyanígy környezetük, valamennyi oikosz időtartama is véges.

A szukcesszív egymásba történő átfejlődés a regresszív fejlődési láncolatokban is megvan (a Törzsfa ágaiban, a kladoszokban). Azonban szemben a progresszív Főtörzssel, ezeknek a fejlődési ágaknak mindig végük szakad. Mennél magasabbrendű élőlénycsoportról van szó, a szukcesszió annál kisebb fokú, és az időbeni egymásmellettiesség annál nagyobb fokú. Ebből kifolyólag a magasabbrendű élőlénycsoportok taxonómiája egyre bonyolultabb, a fejlődési Törzsfa felfelé egyre inkább sűrűbb ágazatúvá válik.

A Főtörzs mindenkori csúcshalakjait azért is nehéz a fossziliák között megtalálni, mert temérdek hasonló konkurens alak között vannak elrejtve. Az élővilág fejlődése során, az egyre magasabbrendű élőlények kialakulásával párhuzamosan a kiirtás aránya, legalábbis a Hominidák esetében egyre csökkent, s a hibridizáció, azaz a megőrizve megszüntetés, az "Aufheben" legtipikusabb biológiai megnyilvánulásának szerepe egyre növekedett.

A Főtörzs leggyorsabb felfutása a taxonómiai hierarchiában azt jelenti, hogy valamennyi taxonnak, amelyet a Főtörzs létrehozott, azaz a Homo sapiens közvetlen előd-taxonjainak az első képviselői voltak azok, amelyek a Főtörzs tagjai voltak. A "lappangó", nonfiguratív alakok [3]. Tulajdonképpen ezeket nevezi Teilhard de Chardin [8] filogenetikai "kocsányoknak".

A kategorizáció szubjektivitásán túl tekintetbe kell venni azt a kérdést is, hogy mely taxonok azok, amelyekről biztosan megállapíthatjuk azt, hogy a Főtörzs tagja-e vagy sem. Jelenleg a Főtörzs biológiai tagját egyértelműen meg tudjuk határozni: ez a Homo sapiens (vö. De Tre Cs. e kötetben). A

megelőző fajt már csak genusra van módunkban meghatározni, ti. nyilvánvalóan valamely Homo faj. (Ebben a paleoantropológiai problémában itt nem lehet célszerű részletesen elmerülni.) A nomenclatura aperta ezután egyre nyíltabbá válik: Hominidae, Hominida, Primates, Mammalia, Reptilia. Ezen belül nyilván ide tartoznak a legelső Anapsidák. Az Anapsidákat megelőzően bizonytalan, hogy melyek lehettek azok a kisebb taxonok, amelyek a legelső Reptiliának tekinthető lényektől, a legelső Mammaliáig eljutottak. A mezozoikum, különösen a jura és az alsó-kréta lappangó emlős fejlődési időszaknak szórványosan megmaradt alakjai feltehetőleg nem estek messze a Főtörzstől.

Ez a bizonytalanság ugyanígy vonatkozik az első Amphibiákra, Osteichthyesekre s így tovább. A Főtörzs valamennyi taxonon belül, szinte észrevehetetlenül, a taxon legjellegtelenebb alakjain keresztül húzódik végig. A Főtörzs alakjai valamennyi taxonon belül azok, amelyek az érintett taxonon belül a legkevésbé tipikusak a taxonokra nézve. A filozófiai értelemben vett típus, ugyanis valamely minőségi kategória (genus filozófiai értelemben) azon része (species filozófiai értelemben), amely e kategória legtöbb specifikumát hordozza, a kategória valamely végkifejlete, totalitása. Nos, ez az élővilágban valamely legjellegzetesebb szerv, szervrendszer nagyfokú, jellegzetes fejlettsége, mely olyan fokú specializációt tükröz, amely kizárja e típusok evolúciós dinamikusságát, tehát azt, hogy a Főtörzs tagjai lehettek. A Főtörzs elért egy nagyfokú specializációt, az emberi agyét, amely már egy alapvetően magasabbrendű minőségi szubsztrátumra lendítette.

A Főtörzs nomenclatura apertájának nyitottságát a paleontológiai kutatók természetesen egyre inkább csökkentik.

Bármely taxon legdinamikusabb, azaz potenciálisan legfejldőképesebb, s ezért legfejlettebb alakjai azok, amelyek még a filogenetikai kezdeti "kocsányon" helyezkednek el. Bármely taxon "kocsánya" áll legközelebb az élővilág leggyorsabb fejlődési vonalához, a Főtörzshöz. N.B.: Fejlettebb az, ami gyorsabban fejlődik. Bármely taxon legfejletlenebb alakjai pedig a taxon "verticilliumai" (= a schindewolfi "typolysis").

A DINAMIKUS EVOLÚCIÓS TÖRZSFA

Az előzőekben vázolt Törzsfa pusztán az evolúció eseményeinek szukceszsióját, az események időtartamát, az elágazás körülményeit, azaz a kladogenezis fenomenológiáját szimbolizálja.

A kladogenezis evolúciódinamikai lényege viszont az, hogy az egyes ágak milyen organizációs szinteket érnek el, milyen "magasra" nőnek, mit kreáltak

— azaz milyen fokú 'dűn a m i s z' jellemző rájuk. A kladogenezis dinamizmusát olyan evolúciós törzsfá megszerkesztésével szimbolizálhatjuk, amelyen valamilyen módon az organizációs szintek is fel vannak tüntetve.

Az organizációs szint a szervezet és a környezet (oikosz) kölcsönhatási intenzitásának mértéke. Tehát egyenes összefüggésben áll a kölcsönhatási szféra sokrétűségével, az energiatárolási képességgel, s ezen keresztül a struktúra-komplexitással, a homioosztázissal és a hüszterezisszel [4].

Amennyiben az egész élővilágra kiterjeszhető organizációs szinteket keresünk, meg kell keresnünk azt a rendszerező kritériumot, amely szintén az egész élővilágra kiterjeszhető. Az organizmus-környezet kölcsönhatási intenzitás, a struktúrabonyolultságon keresztül a formában manifesztálódik, azaz minden organizációs szintre jellemzők bizonyos formai bélyegek.

Az élővilág organizációs szintjeinek problémája összefüggésben áll a homöomorfia problematikájával. A homöomorfia lényege pedig az, hogy az azonos organizációs szintek, s ezzel együtt hasonló formák különböző filogenetikai utakon is elérhetők.

A bonyolultabb struktúrák kialakulásának vannak bizonyos predesztinált szintjei, amelyeket az organizmusok genetikai hagyományterheltsége, evolúciós hüszterezisze [4] határoz meg. A lehetséges kölcsönhatási módozatok kialakulása az élővilágban, a lehetséges struktúrák véges rendszerében, lehatároltak.

Az élő rendszerek magukban hordoznak egy véges lehetőségi keretet arra vonatkozóan, hogy különféle környezeti hatásokra miként reagálhatnak, s környezetükkel milyen kommunikációs rendszereket építhetnek ki. Ez az a lehetőség, amelyet az Élővilág, vagy egyes csoportjainak "entelecheiá"-jának nevezünk.

A kölcsönhatási szintek predesztinálnak bizonyos morfortípusokat, amely elsősorban a szerv-hasonlóságban jut kifejezésre. Például a fény segítségével történő kommunikáció hasonló szerveket, nevezetesen a szemet hozza létre. A szem-típusok kialakulása is a legkülönbélebb polyphletikus módozatokban jött létre, de lehetséges típusai nagyon is lehatároltak. Legfejlettebb típusa az egylencsés szem, amely a gerinceseknél és a Cephalopodáknál található, de e két távoli ágon teljesen függetlenül alakult ki, szép példaként az érzékszerv-homöomorfiának (vö. Wolsky, A. [9]).

Az ön-mobilizáció lábakat fejleszt ki, amelyek az élővilág egyik legalapvetőbb homöomorfia jelenségeként már az egysejtűeknél is megjelennek.

Az automobilitásnak, amely lényeges feltétele a poliöoikémának [3], vannak olyan fejlettségi fokai, amelyek csak bizonyos taxonómiai szűk alak-

körre jellemzőek. Például ilyen a legmagasabb kölcsönhatási-organizációs szint: a vizuális-poszturális testmodell, amely az egész élővilágban csak a Primateseknél található meg, s ez mint organizációs szint a Primatesek legfőbb sajátossága (vö. Marton L. M. [6]). Ez az arborikus életmódhoz elengedhetetlen nagyfokú helyzet-orientációs képesség eredménye.

E képesség kialakulása azonban elengedhetetlen előfeltétel volt a biológiai alapvető minőségből kialakuló alapvetően magasabbrendű minőség, az emberi társadalom kialakulásához.

A kölcsönhatás-intenzitási, azaz az organizációs szint nem tévesztendő össze a potenciális fejlettséggel, amely minden időben a legnagyobb fokú a leggyorsabb fejlődés, a Főtörzs mentén. A Főtörzs mentén a szervezettség a legharmonikusabb, azaz egyetlen szerv sem ér el olyan egyirányú fejlettséget, amely a későbbi readaptációkat lehetetlenné tenné. A Főtörzs az organizáció lehetőségét hordozza magában a mindenkori maximális mértékben. A szervezettség és a potenciális fejlettség tehát egymással ellentétes lét-helyzetek (vö. az arisztotelészi "energeia", "dünamisz", ill. "entelecheia" kategóriákat).

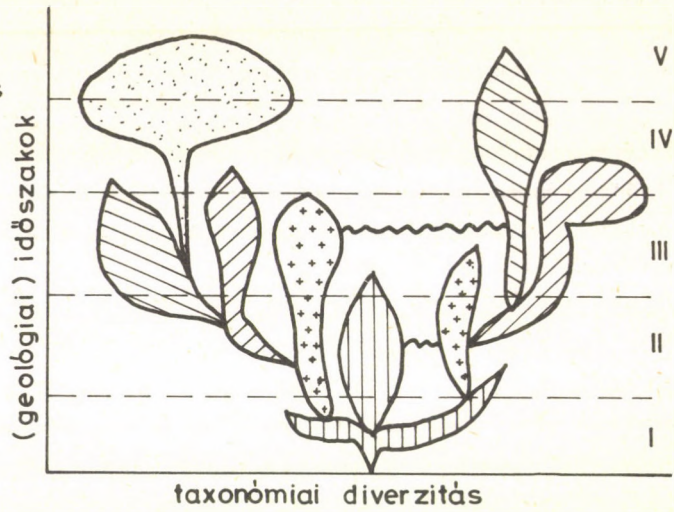
Potenciálisan a legfejlettebbek azok az organizmusok, amelyek a legkeményebb dezadaptációs helyzetek legyűrése után a legmélyebbről, azaz alacsonyabb organizációs szintekről küzdötték fel magukat a legmagasabbra. A megelőző-szintről a legmélyebbről indulva elsőként törték át a következő szint határát. Az evolúció dinamikája tehát a szüntelen "utolsó pár előre fűss" dinamikája, a "hűszteron eiszi próton" dialektikája.

A nagy dünamisz magában hordozza a magasfokú organizáció (= energeia) létrejöttének (= entelecheia) lehetőségét. Ennek létrejöttékor azonban megszűnik az iniciatíva dünamisz. Az adaptáció-dezadaptáció-readaptáció ciklus során a dünamisz a dezadaptív szakaszban halmozódik fel [1, 2, 3]. Az evolúció hajtóereje éppen abban rejlik, hogy az egyre magasabb szervezettségi szinteken újabb és erőteljesebb dinamikus állapotok jönnek létre (vö.: a polioikéma az adaptáció szelektivitása folytán "felfelé" növekedik, amely állapot újabb bonyolultabb organizációk megvalósulásában, organizációs sikerekben oldódik fel [3]).

A Főtörzs a mindenkori legmagasabbrendű dünamisz vonala, az egymásba áttejlődő nagyobb organizációs szinteken belül, a minimum-organizációs helyzeteken vonul végig.

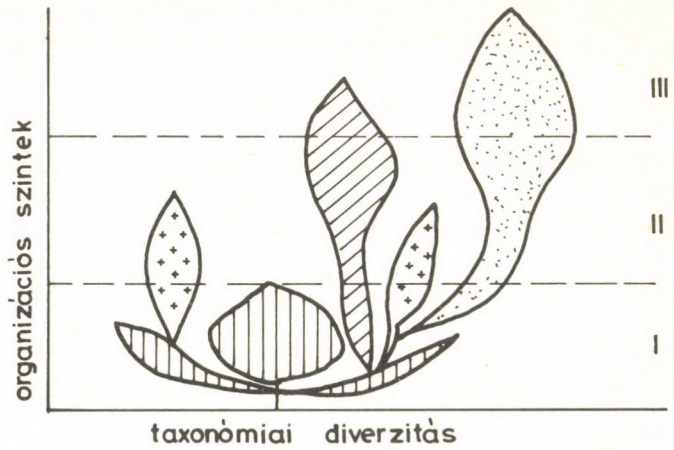
A Főtörzs láncolatának mindenkori alakjai a legbonyolultabb, legmagasabbrendű kölcsönhatásrendszerben, oikoszban "nőttek fel". A Főtörzs tagjai tehát mindenkor a legdinamikusabb oikoszokban a leginkább meghúzódni képes,

A.
chronometrikus



- | | | | |
|--|---|--------------------|----------------------------------|
| | A | organizációs szint | |
| | B | organizációs szint | |
| | C | organizációs szint | |
| | D | organizációs szint | |
| | E | organizációs szint | |
| | | | kvantifikált taxonómiai távolság |
| | | | taxon-tartalom |

B.
fastigiometrikus



- | | | | | | |
|--|---|---------|--|---|---------|
| | A | időszak | | C | időszak |
| | B | időszak | | D | időszak |

1. ábra

lappangó alakok. A Főtörzs a mindenkori legkevesebb a mindenkori legtöbbén belül. Ebből következik az, hogy a "kocsányok" egymásutánja minden nagyobb csoport első alakjai, a mindenkori legnagyobb fokú polüoikéma-állapot. Ugyanakkor azonban az evolúció döntő jelentőségű legnagyobb szintáttöréseit is tartalmazza.

Az evolúció sebességének egyetlen mértéke van: a leggyorsabb fejlődés útja. Az az út, amely az első élőlénytől a Homo sapiensig vezetett. Minden más evolúciós sebesség, azaz egy skaláris időskálán belül végbement organizációs szint-változás csak ezzel vethető össze, mint abszolút mértékkel (Pantón chrématón metron anthróposz — Prótagorasz).*

Az élővilág egyetlen lehetséges általános szintezési kritériuma az, hogy milyen "alacsonyrendű" energiákat használ fel, avagy épít be saját rendszerbe. ("Alacsonyrendű az, ami hatalmas" — N. H a r t m a n n.) Mennél magasabbrendű valamely szervezet, annál mélyebben hatol be az "alacsonyrendű-hatalmas" nagyobb energia-szintekre. Ez viszont sokrétűbb kölcsönhatást biztosít a környezettel, amely a bonyolultabb, magasabbrendű struktúrában manifesztálódik.

A dinamikus evolúciós törzsfamodellel tulajdonképpen egy diagram, amely az abszcisszán feltünteti a taxonómiai diverzitást. Az ordinátán pedig két ábrázolási lehetőség van: vagy az időt (chronometrikus diagram), vagy pedig az organizációs szinteket tüntetjük fel (fastigiometrikus diagram). Ugyanakkor magán a diagramon belül az ábrázolt kladoszokon feltüntethető a két típustól függően vagy az organizációs szint, vagy pedig az idő-intervallum. A diagramról így leolvasható az egyes kladoszok dinamizmusa, azaz, hogy milyen időszakban milyen organizációs szintet ért el.

Ugyancsak a kladoszokon feltüntethető azok taxonómiai, vagy ami ezzel össze is függ, egyedszámbeli gazdagsága.

A dinamikus Törzsfadiagram általános elvi vázlatát az 1. ábra mutatja be.

Mind a két Törzsfadiagram típus jól illusztrálja azt, hogy bizonyos organizációs szintek nincsenek időszintekhez kötve, s tulajdonképpen éppen ezért nincsenek univerzális időszintek, mert a hasonló organizációs szintek

*Az ember csúcsú (Prótobiosz-Ember) rendszertani hierarchia antitéziseként tartják számon Simpson [7] felfogását, miszerint az evolúció csúcsa nem a Homo sapiens, hanem a páros ujjú patások. Azonban tágabb értelemben az is antropocentrikusság, ha az emlősöket tartjuk a legfejlettebb Vertebrataclassisnak, vagy a Vertebratákat tekintjük a legfejlettebb törzsnak. Tagadja-e az utóbbi kettőt valaki?

egy alacsonyabbrendű, skalárisabb időskálában nem "szinkronok". A newtoni "abszolút idő" cáfolata jelenik meg itt előttünk a diagramon.

I R O D A L O M

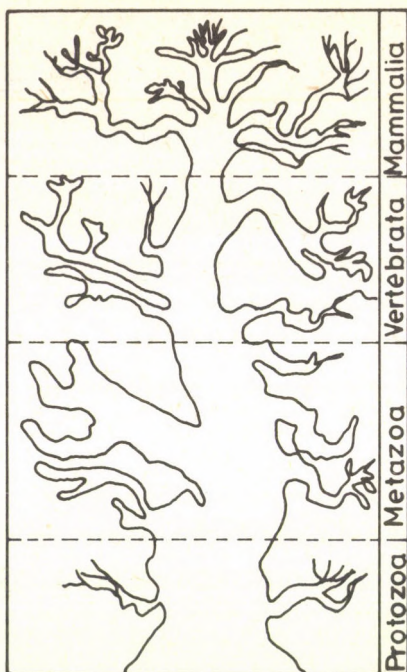
1. Detre Cs. (1979) Az elidegenedés és alkalmazkodás dialektikája. — *Biológia*, 27, 185—187.
2. Detre Cs. (1982) Adaptáció—dezadaptáció—readaptáció. *M. Áll. Földt. Int. Évi Jel.* 1980-ról, 565—568.
3. Detre Cs. (1982) On the dynamics of evolution. In: Novak, J. A., Milkovsky, J. (eds): *Evolution and Environment*. CSAV, Praha, 455—459.
4. Detre Cs. (1984) Morphological criteria of the uniqueness of progressive evolution. — *Evolution and Morphogenesis. IVth International Meeting of Evolutionary Biology, IIIrd Symposium of Evolutionary Morphology. Abstracts of Communications. Plzen, Czech. Acad. Sci.*
5. Kordos L. (1985) Haeckel — törzsfa — evolúció — rendszerezés. *Biológia*, 33, 113—122.
6. Marton L. M. (1970) Tanulás, vizuális—poszturális testmodell és a tudat kialakulása. *Magyar Pszichológiai Szemle*, 27 (Új sorozat, 2).
7. Simpson, G. G. (1962) *Principles of animal taxonomy*. Columbia Univ. Press, New York, London.
8. Teilhard de Chardin, P. (1973) *Az emberi jelenség*. Gondolat, Budapest.
9. Wolsky A. (1984) Problems of the Evolution and Morphogenesis of the Arthropodan Eye. — *Evolution and Morphogenesis. IVth International Meeting of Evolutionary Biology, IIIrd Symposium of Evolutionary Morphology. Abstracts of Communications. Plzen. Czech. Acad. Sci.*

HAECKEL — TÖRZSFA — EVOLÚCIÓ — RENDSZEREZÉS

KORDOS LÁSZLÓ

Magyar Állami Földtani Intézet, Budapest

Az élővilág fejlődésének és leszármazási kapcsolatainak ábrázolására a legszemléletesebb módot 118 évvel ezelőtt Ernst Haeckel választotta meg. Harminckét éves korában jelentette meg a "Generelle Morphologie der Organismen" c. könyvében az emlősök, majd később, 1874-ben az állatvilág törzsfáját ("Anthropogenie oder Entwicklungsgeschichte des Menschen"). A törzsfa megalkotásának kézzel fogható példája a sokágú, magasra törő, állandóan fejlődő fa volt, amely szabályos tükröként állt Haeckel előtt. A törzsfa gondolati magja a fejlődés. Haeckel a darwinizmust igen gyorsan értelmezve, azt hét évvel a "The origin of the species" megjelenése után transzformálta saját, átfogó világszemléletére. A fejlődés lényegi kérdései közül Haeckel két tényezőt ábrázolt törzsfáján, az egyszerűtől a bonyolultabb szerkezetek felé törekvést, valamint az evolúció szakaszosságát. Igen jellemző a haeckeli törzsfán, hogy az időt nem tünteti fel, legalábbis nem közvetlen formában. Az idő szemléltetésére önmagát a fát, mint állandóan növésben, fejlődésben, gyarapodásban mintázza meg. Ennek következtében a törzsfa ágainak csúcsa, a fa koronájának kontúrvonala jelzi a legfiatalabb kort, vagyis napjainkat, míg a központi törzs az ősi főirányt, ahonnan az elágazások történnek, s a törzs gyökérbe vesző része a kezdetek kezdete. Az evolúció szakaszosságát Haeckel a fa ágainak egymáshoz viszonyított elhelyezésével juttatta kifejezésre, ahol az úgymond alacsonyabbrendűek a földhöz közelebbi, a magasabbrendűek pedig a csúcs körüli régiókban találhatóak (1. ábra). A haeckeli törzsfa egyúttal kifejezi szerzőjének a rendszerezésre vonatkozó szemléletét is. Rendszere szakaszokra bomló, szintekre tagolódó, igen kevés őslénytani adatot figyelembe vevő fejlődési rendszertan. Haeckel szemléli tágasságának érdekes, figyelemre méltó jele a "missing link", a majomember feltételezése és az ősmajom — pithecanthropus — homo közvetlen fejlődési sor törzsfán történő ábrázolása.



1. ábra. Haeckel állatvilágot ábrázoló 1874. évi törzsfájának vázlata (részletesebben lásd a szövegben)

Mint minden későbbi törzsfá, úgy a Haeckel-féle is következetesen jellemzi az élővilág kialakulásáról vallott nézetet. A törzsfá első formája a darwinizmus robbanásának idején, a darwini-haeckeli ismereti szinten és ebből fakadó elméleti megfontolások alapján készült. Ez a determinizmus az evolúcióról alkotott ismeretek bővülésével, szemléletváltozásaival napjainkban is hat.

Természetesen törzsfá ábrázolása csak azokban az elméletekben lehetséges, ahol a leszármazás gondolata megtalálható. A metafizikus és mágikus teóriák (Arisztotelész, Paracelsus, van Helmont), vagy az élővilág mechanikus nézeteit vallók (Descartes, Linnaeus a Systema naturae 12. kiadásában), a korai fiziológusok (Malpighi, Spallanzani), biokémikusok és citológusok (Schleiden, Schwann, Wöhler) eredményei még fel sem vethették a törzsfá gondolatát.

A törzsfá szellemi előfutárai Wolff és Lamarck munkásságáig vezethetők vissza, akik hitték, hogy a különböző rendszertani csoportok között rokonsági kapcsolat van, s megalapozták az élővilág historikus koncepcióját.

A Haeckel által megalkotott törzsfá a korai darwinizmus szülötte, amely az alapozó elmélet és az evolúció kis részét ábrázolja. Nem ad tájékoztatást a fejlődést létrehozó tényezőkről, azok hatásrendszeréről, s csak

korlátozottan tükrözi a leszármazást, az előd—utód kapcsolatot. Ez utóbbi lehetőség az, amely azonban igen nagy változatosságot biztosít a törzsfák számára, s amely egyúttal a túlzott szemléletesség vakító hatása révén jelentős mértékben elnyomja az evolúció igen sok apró részletét, esetleg lényegét.

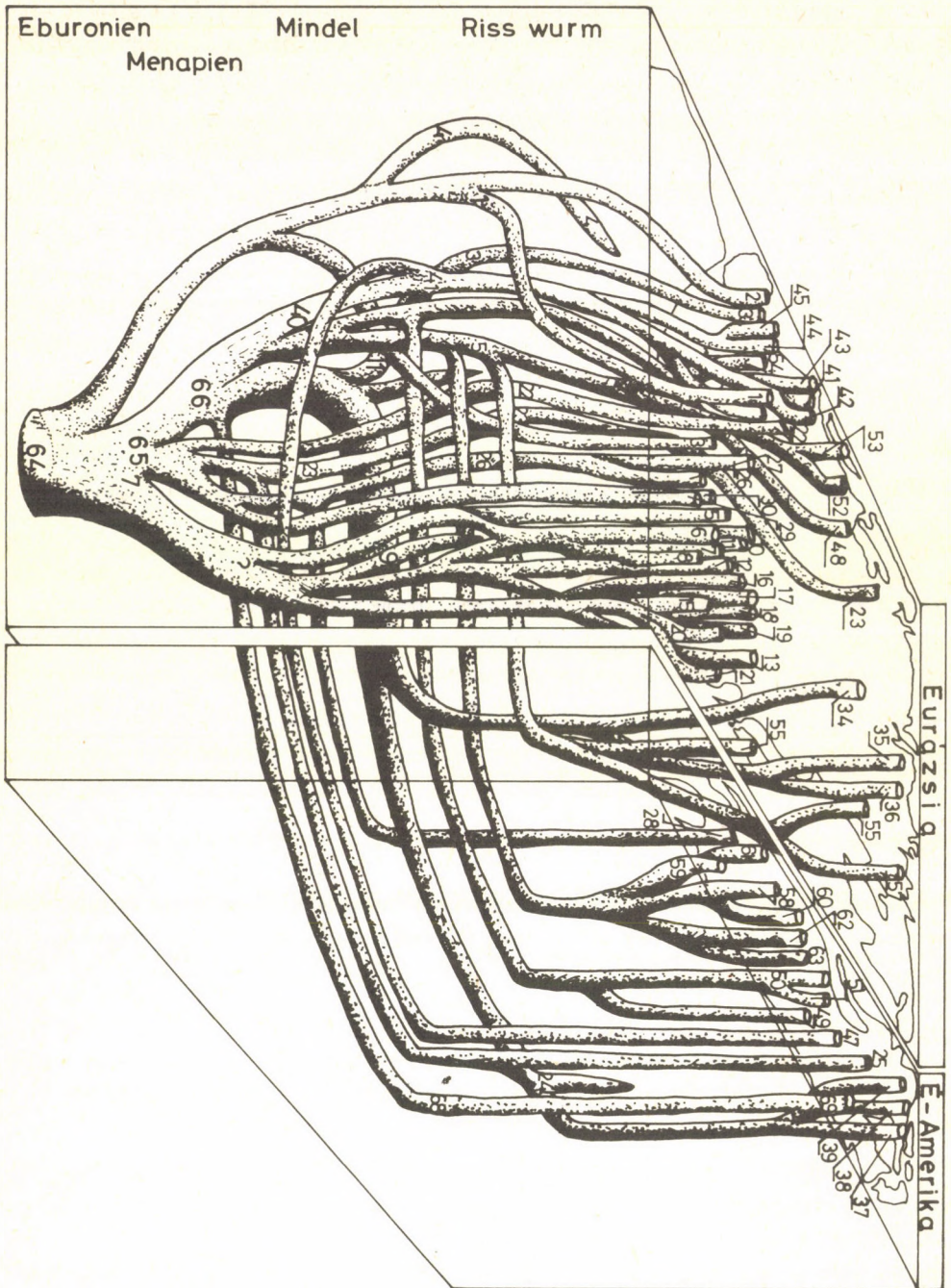
A K o v a l e v s z k i j-féle morfo-funkcionális elemzés (1874), C o p e n e o l a m a r c k i z m u s a (1886), O s b o r n, majd később S i m p s o n adaptív radiációja (1938, 1944), S c h i n d e n w o l f tyopostrophismus elmélete (1959) mind-mind kitermelte a maga, ma már klasszikus törzsfatípusát. Századunk első felében a törzsfáábrázolás egyre bővült, gazdagodott, s kialakultak azok a jellegzetességek, amelyeket napjainkban a szűkebb értelemben vett törzsfától megkívánunk.

Ezek: 1. az időtényezőt vegye figyelembe, lehetőleg arányhelyesen, 2. valóság, vagy reálisnak tűnő előd—utód leszármazási kapcsolatokat tartalmazzon, 3. a vízszintes tengely irányában jelezze az egyes ábrázolt egységek közötti differenciát.

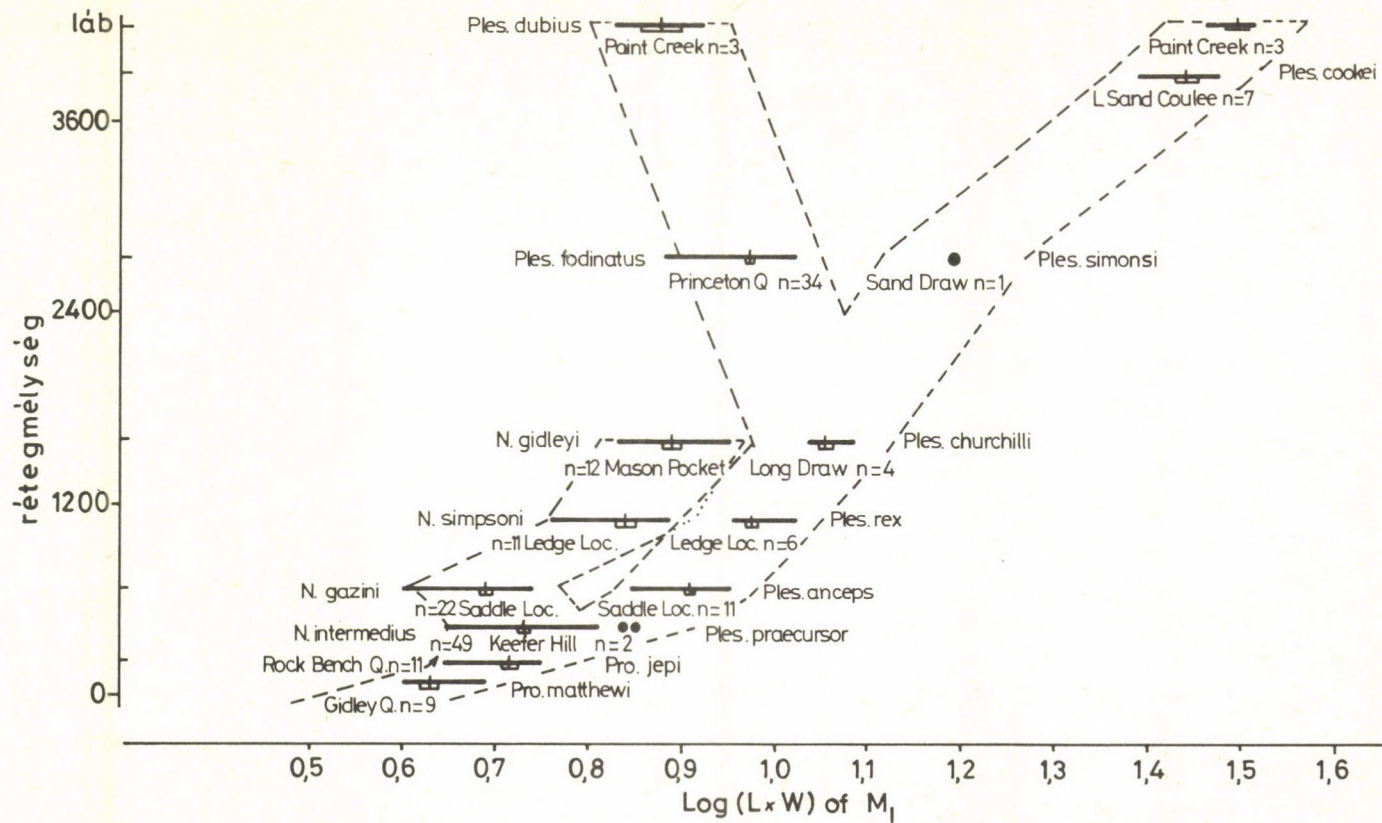
A haeckeli törzsfafa törzsfája úgy tűnik elérte fejlődésének csúcsát, miután igen kevés lehetőség kínálkozik arra, hogy az evolúció történetének leírásán kívül mást is ábrázoljon. A leírás finomítására két példát érdemes felhozni. Az egyik a földrajzi tér, a történeti—állatföldrajzi tényező bekapcsolása. Ezt tette C h a l i n e, J. [1] a pocokfélét ábrázoló bonyolult törzsfája, amely térben, állatföldrajzi kapcsolataiban helyezi el a rágcsáló-csoport kialakulását (2. ábra). Szintén gerinces paleontológus, G i n g e r i c h [4] alapozta meg az ún. "stratophenetikus" módszert és ábrázolási módot (3. és 4. ábra). Ennek alapja az, hogy kronológiai vagy biosztratigráfiai szintenként rakja fel a rokon fajok egy-egy jellegzetes metrikus adatát vagy indexét. Ezáltal a törzsfafa ágai nem mesterségesen, hanem a valóságnak megfelelően helyezkednek el.

A "klasszikus" törzsfafa mellett már régóta jelentkeztek azok a "törzsfafaszerű" ábrák, amelyek nem a még szigorúbb történeti realitások ábrázolásának irányába fejlődtek, hanem egyszerűen csak valamilyen tényező vagy tényező-csoport kapcsolatrendszerét kívánták ábrázolni úgy, hogy hűek maradtak a valóság leszármazási kapcsolatok elvéhez. Ez a mozgékonyabb, több szabadságot megengedő mód kismértékben teret enged az evolúció tényezőinek részletesebb ábrázolására is. Ebből a szempontból a H e n n i n g-féle cladismus [7] és az E l d r e d g e, M.—G o u l d, S. J. [3] által kidolgozott ún. "punctated equilibria"-elmélet megjelenése okozott jelentősebb előrelépést.

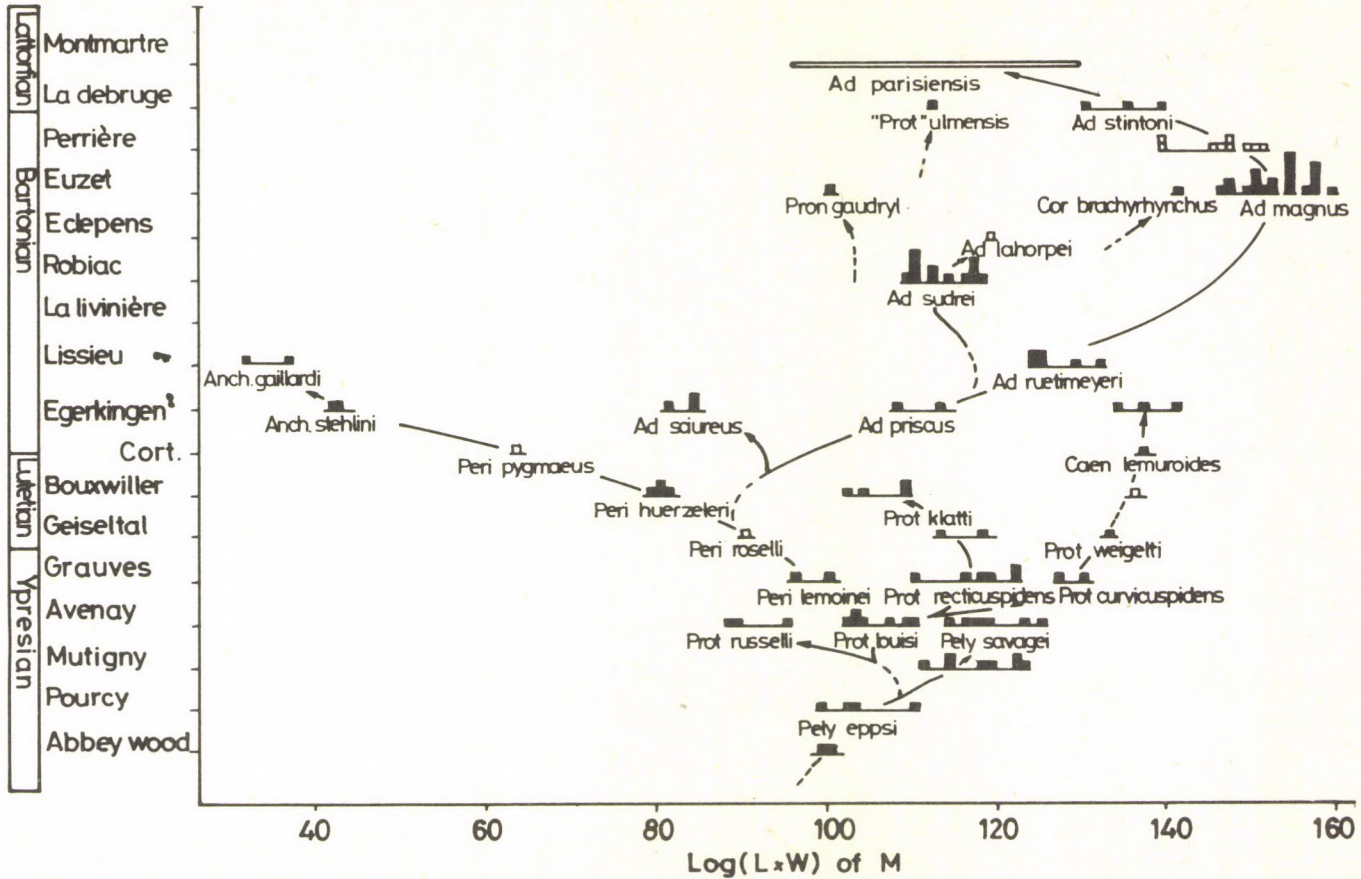
A henningizmus (cladismus) újraértékelve a nagyrészt recens állatokra alapított rokonsági kapcsolatokat, megkülönbözteti a monofiletikus, parafiletikus és polifiletikus rendszereket (5. ábra). Lényeges eleme, hogy csak dichotomikus



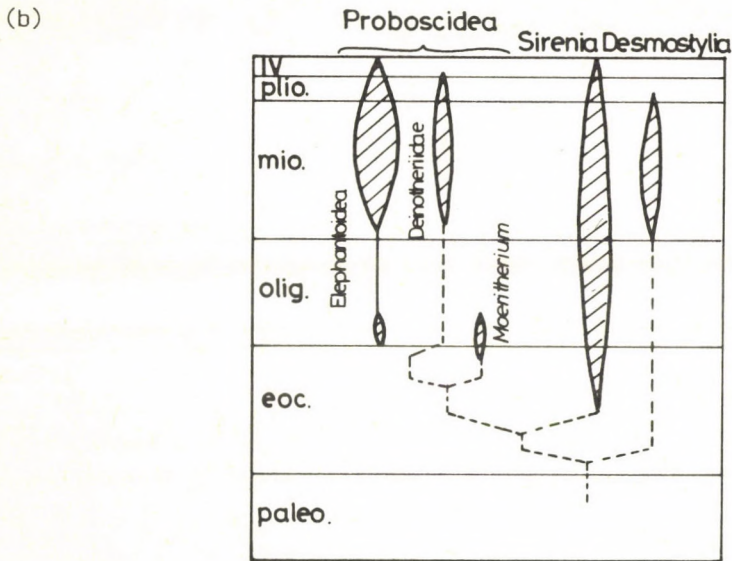
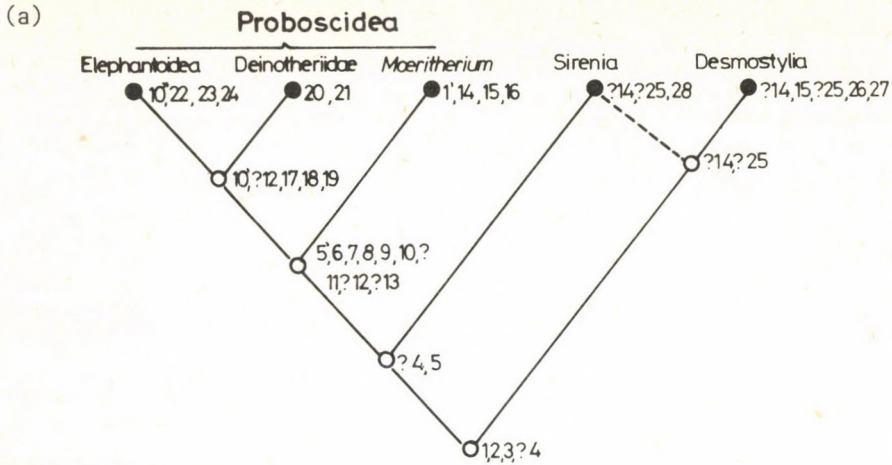
2. ábra. A pocokfélék bonyolult, történeti-állatföldrajzi szemléletű törzsfája (Chaline, J. [1])



3. ábra. Az észak-amerikai eocén kori primitív emlősök, a Plesiadapidea-k ún. sztratofenetikus törzsfája, ahol egy bélyeg, a fogak alapján számított termet evolúciós változása rajzolja meg a törzsfát (Gingerich, Ph. D. [4])



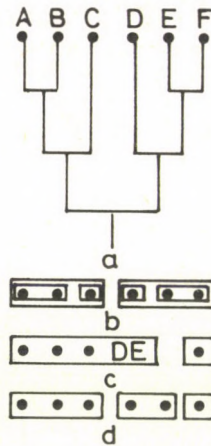
4. ábra. Az európai eocén főemlősök (Adapidae) sztratofenetikus vonalai és szétágazódásai. Az egyes fajok törzsfán elfoglalt helyét nem a rajzoló, hanem az adott földtörténeti kor és az egykori állat metrikus adatai határozzák meg (Gingerich, Ph. D. [4])



5. ábra. Az ormányosok és közvetlen rokonaik kladogramja (a) és az annak segítségével, valamint fosszilis adatokra támaszkodó törzsfa (b). A kladogram segítségével a rokonsági fok határozható meg, míg a fosszilis leletek azok időbeli elhelyezésére adnak támpontot (Tassy, P. [10])

elágazódásokat fogad el. A kladisták nagy érdeme, hogy értékelték a törzsfa elágazási lehetőségeit, típusait, új szintre emelték az akademikussá vált rendszerezési elveket. Főleg az utóbbi váltotta ki azt az ellenkezést, amely a kladizmus erőteljes bírálatában nyilvánult meg. Tény, hogy a kladogramok valóban nem elégítik ki a törzsfával szemben támasztott igényeket, s önmagukban nem elégségesek egy új rendszertani hierarchia kialakításához. Min-

denesetre megteremtik annak lehetőségét, hogy a sokoldalúan és rendszerint multivariációs elemzésekkel nyert adatokat az eddigiéknél részletesebb és céltudatosabb módon csoportosítsák. Ez a szemléletváltás döntő jelentőségű lehet az új rendszertan kialakítására (6. ábra) [5, 9, 10].



6. ábra. A kladizmus új lehetőségeket teremtett a rendszertanban. A rovarok törzsfája (a) értelmezhető kladisztikusan (b), a klasszikus rendszerezés szerint (c) vagy újabb kombinációként (d).
A = Protura, B = Collembola, C = Diplura, D = Machilodea, E = Lepismatodea, F = Pterygota, DE = Thysanura (Sicilien, Ch. [5])

A "punctated equilibria" elmélete még csak felvázolta törzsfajjellegét, elágazási típusait (7. ábra). Konkrét, erre az elméletre szabott törzsfaj még nem készült, de az elmélet vitája révén két tényező került központba. Az egyik, az evolúció dinamikájának kérdése, a felgyorsult ("punctated") és a lelassult ("equilibria") szakaszok őslénytani anyagon történő igazolása vagy cáfolása, mérése és ábrázolása. Másrészt olyan új ábrázolási módokat vet fel, amelyek lassan elhagyni látják a törzsfaj "fa" jellegét. Ennek eredményeként ma már megkülönböztetik az elméleti és próba (kontroll) törzsfákat, ahol a morfológiai differenciák mértékének ábrázolása következtében a törzsfaj rendszerint féloldalas lesz, nem a függőleges tengely, hanem a középvonal irányába tart [2, 6, 11].

Röviden, a Haeckel-évforduló kapcsán áttekintve a törzsfaj állomásait, lehetőségeit, megállapítható, hogy az mindmáig a legszemléletesebb törzsfajfejlődést bemutató módszer, amely az eddigi példák alapján lehetőséget nyújt az ős—utód kapcsolatrendszer számított és valós folyamatának ábrázol-



7. ábra. A "punctated equilibria" evolúciós modell új lehetőségeket nyit a törzsfák formájában és tartalmában (részletesen a szövegben).
(Gould, S. J. [6])

lására, alkalmas dinamikus történeti-állatföldrajzi események bemutatására, valamint rendszertani kategóriák kijelölésére. Amennyiben a törzsfák adatait egybevetjük a rájuk vonatkozó lemeztektonikai, paleoklimatológiai helyzetekkel, a makroevolúció esetleges egybeeséseit, kölcsönös és párhuzamos tényezőit is meg tudjuk állapítani. Ezzel a módszerrel be lehet határolni azokat az igen jelentős környezeti hatásokat, amelyek az időfaktorral együtt kétségtelenül a makroevolúció tényezői között szerepeltek. Ennek kiderítése az ipari méretű geológiához kapcsolódó őslénytani kutatás mindennapi feladata, munkamódszere és szinte kizárólagos lehetősége.

I R O D A L O M

1. Chaline, J. (1974): Esquisse de l'évolution morphologique, biométrique et chromosomique du genre *Microtus* (Arvicolidae, Rodentia) dans le Pléistocène de l'hémisphère nord. — B.S.G.F. 7, 440—450.
2. Cracraft, J. (1979): Phylogenetic analysis, evolutionary models, and paleontology. In: Cracraft, J. and Eldredge, N. (eds): Phylogenetic analysis and paleontology. Columbia University Press, New York, 7—39.

3. Eldredge, N. and Gould, J. S. (1972): Punctated equilibria. An alternative to phyletic gradualism. In: Schopf, T. J. M. (ed.): Models in paleobiology. Freeman, Cooper and Co., San Francisco, 82—115.
4. Gingerich, Ph. J. (1979): The Stratophenetic approach to phylogeny reconstruction in vertebrate paleontology. In: Cracraft, J. and Eldredge, N. (eds): Phylogenetic analysis and paleontology. Columbia University Press, New York, 41—77.
5. Gingerich, Ph. J. (1983): Rates of evolution: Effects of time and temporal scaling. *Science*, 222, 4620.
6. Gould, S. J. (1983): The meaning of punctated equilibrium and its role in validating a hierarchial approach to macroevolution. *Scientia*, 118, 83—101.
7. Henning, W. (1950): Grundzüge einer Theorie der phylogenetische Systematik. Deutscher Zentralverlag, Berlin.
8. Henning, W. (1966): Phylogenetic systematic. — Univ. Illinois Press, Urbana.
9. Sicien, Ch. (1983): Species concept and taxonomic principles. *Scientia Sinica (Ser. B.)*, 26, 1037—1045.
10. Tassy, P. (1981): La crane de *Moeritherium* (Proboscidea, Mammalia) de l'Éocene de Dor el Talha (Libye) et le problème de la classification phylogénétique du genre dans les Tethytheria McKenna, 1975. — *Bull. Mus. natn. Hist. nat. (Paris)*, 4. ser. 3. sect. C. 1., 87—147.
11. Torre, D. (1982): Alcune riflessioni critiche sul modello evolutivo "punctuated equilibria". — *Proc. First Internat. Meeting on "Paleontology, Essential of Historical Geology"*, Modena, 303—308.

A NÖVÉNYVILÁG TÖRZSFA MODELLJEI

NAGY LÁSZLÓNÉ

Magyar Állami Földtani Intézet, Budapest

A botanikai törzsfák — a zoológiaiakhoz hasonlóan — különböző típusúak. Ami alakjukat illeti, a törzsfa szót idézőjelbe lehetne tenni, mert ma már inkább bokorhoz hasonlíthatók, mint fához.

E dolgozatban a botanikai törzsfák kialakulásának tudománytörténeti hátterét szeretném felvillantani, s néhány példán — a növényvilág rendszeréhez kapcsolódóan — törzsfa modelleket ismertetni.

A botanikai törzsfák felderítésénél elsősorban Zimmermann, W. munkáihoz fordultam. Ő maga nemcsak kiváló botanikai rendszerező, hanem evolúciókutató, s a telomarendszer elméletének kimunkálója.

Az evolúciókutatás forrásanyaga óriási. Ezekből az anyagokból a megfelelő evolúciós jelenségek kiválasztása után a filogenetikai folyamatok gondolkodással rekonstruálhatók. Zimmermann szerint ui. — a legtöbb esetben — nem vagyunk abban a helyzetben, hogy evolúciós folyamatokat közvetlenül megfigyelhessünk, különösen nem a makroevolúciós folyamatokat (Zimmermann [15], 3. old.).

E kérdések megoldására a biológiai és földtani tudományok területén felhalmozott adathalmazból számos világhírű kutató merített; s nemritkán — ma sem befejezetten — újabb és újabb felfedezésekkel, azok értelmezésével — helyenként nagy vitákat kiváltva — alkották meg a törzsfákat.

A növényrendszertani ismeretek helyzete szabta meg elsősorban a törzsfa-felállítás lehetőségét.

Nem említem a linnéi és Linné előtti mesterséges rendszereket, meg az ún. természetes rendszereket sem (Jussieu 1789, De Candolle 1819), mert ezek nem fejlődési alapon készültek.

Endlicher István (1804—1849) rendszerében már felfedezhető a fejlődés gondolata. Két fő csoportra osztja a növényvilágot: 1. Thallophyta (te-

lepes növények): algák, zuzmók, gombák-ra, 2. Cormophyta (száras növények): mohák, harasztok, cycadeák, egyszikűek, fenyők és kétszikűekre.

A botanikában is csak Darwin hatására érvényesült a fejlődés gondolata, de a zoológiával szemben, késéssel jelentkezett. Hátráltatta, hogy a növénytermesztésben széles körben a vegetatív szaporodási módok voltak elterjedve, amelyek miatt a nemzedékváltás ismeretének tudatosulása visszamaradt.

Csak a XIX. században terjedt el, szélesebb körben, a filogenetikai fejlődés gondolata, a növényi szexualitásra vonatkozó ismeretek általános elterjedésével, ill. az ivaros és vegetatív szaporodás változásának, a nemzedékváltásnak felismerésével.

Haeckel kortársának, Hofmeisternek (1824—1877) híres összehasonlító vizsgálatai — a mohok és páfrányok nemzedékváltásáról — adták az ismeretek alapjait.

Előtte már mások is felvetették a nemzedékváltás gondolatát (A. Braun, Steenstrup, Kaulfuss, Mettenius etc.), de Hofmeister munkálkodása jelentősebb ezeknél, mert 1. sok ismerethézagot töltött ki a kutatási eredményeivel, s az általa közölt mintaszerű gondos ábrázolásokkal (pontos rajzokkal); 2. minden elődjénél nagyobb mennyiségben tekintette át mindkét generáció összehasonlító felépítését, szerveződését; 3. összehasonlító kutatási eredményeként, a mohoknál és az edényes virágtalanoknál egyaránt, a szaporodás jelensége és a szaporítószervek között a legteljesebb megegyezést találta (Zimmermann [15], 404. old.).

Igy Hofmeister adatai megalapozták a fejlődés gondolatának útját a mohok, izospóras páfrányok és a heterospóras Hydropteridesektől és vezették a magvas növények irányába.

A fejlődés gondolata a növények rendszerezésében is megmutatkozott, két nagy törzsfelődéstani alapokon nyugvó növényrendszertan képviselőjének munkásságában. Ez a két rendszer a német A. Engler (1844—1930) és az osztrák R. Wettstein (1863—1931) nevéhez fűződik.

Engler rendszere nem következetesen fejlődéstörténeti. A virágtalan növényeket 13, a virágosokat 1 külön csoportba osztja (Gymnospermae és Angiospermae). Ez utóbbinál a Monocotyledones után helyezi a Dicotyledonest.

Wettstein rendszerében a zöldmoszatokkal egy törzsbe helyezte a részben belőlük származó gombákat, s az edényes virágtalanok törzsét a virágos növényekkel kapcsolja össze.

A növényvilág fejlődéstörténetének ábrázolására a kérdéssel foglalkozó kutatók, tudósok számos ún. törzsfát rajzoltak az egyes növényi taxonok kap-

csolatainak feltüntetésére. A törzsfák alját nagyon sok esetben ?-lel indítják (Boureau 1964, 1967).

A törzsfák alapját nagyon sok tudományterület adta. Elhagyva az egyéb fontos filogenetikai alapokat nyújtó, alátámasztó ismeretforrásokat, a rendszertan alapjait szolgáló morfológiai, anatómiai, genetikai kutatások eredményeit, nem szólva a növényföldrajzi ismeretekről, csak a paleobotanikai ismereteket, ill. leleteket emelem ki, mint a fejlődéstani növényrendszer egyik legfontosabb alapját.

A Darwin utáni időkből Solms-Laubachot említem (1842–1915), aki a mezozoos Bennettitales első feldolgozója volt. A Bennettitalesek teljes rekonstrukcióját Wieland végezte el (1906 és 1916-ban), s a figyelmet felhívta a Cycadophytáknak az Angiospermae-val való kapcsolatának lehetőségére. Igen nagy jelentőségű 1904-ben a karbon Pteridospermae = magvaspáfrányok felfedezése (Oliver és Scott által), akik mindketten a kiváló Williamson (1816–1893) tanítványai. Nyitvatermő és páfrány habitus összefüggései találhatóak meg a magvaspáfrányoknál: a levél = sporophyllum = páfrányra utaló; a mag, törzs = gametophyton = nyitvatermőkre utaló sajátosság.

A devon Psilophyták felfedezése Kidston és Lang által (1917–1921-ben) az egész Cormophyta-filogenezis kiindulása lett.

Kiemelendő eredmény 1938–45-ben a fiatal paleozoos Coniferae leleteket Florin szerinti értelmezése (Zimmermann [16], 16. old.). 1960–1976-ban Beck felfedezte az előnyitvatermőket. A devonból 1871 óta ismerték az Archaeopteris heterospóras páfránylevelet, és 1911 óta a Callixylon nyitvatermő törzset. Beck megállapította — egy újabb lelet segítségével (1960) —, hogy ez a két lelet összetartozik. Ez a felfedezés — az összefüggések megvilágításával — igen nagy lendületet adott a filogenetikai fejlődésnek.

Beck (1970–76), Galtier (1974), Millay et Taylor (1979) a magvaspáfrányokkal foglalkoztak. Megállapították, hogy valószínűleg az előnyitvatermőkől vezethetők le (a mikrosporangiumok hasonlósága utal erre). S ez a tény támasztotta alá azt a megállapítást, hogy a nyitvatermők valószínűleg monofiletikus eredetűek: miután morfológiai, anatómiai és palynológiai alapon az elő-, ősi- és mai nyitvatermők között nincs alapvető eltérés (Galtier 1974, Beck 1976). Két nyitvatermővonal állapítható meg: a cikász és tobozos fenyők közös őse, az Aneurophytales devon előnyitvatermő ősből levezetve:

1. vonal = magvaspáfrány, Calamopytis, Lyginopteris, Cikász,
2. vonal = Archaeopteridales (előnyitvatermő), amiből a tobozosfenyők [Cordaitales, Coniferales] (Beck 1976, Delevoryas et Hope, 1977) vezethetők le.

1975–80 között Banks a Psilophytákat szétválasztotta (kiszűrte a korpafüveket, zsurlókat, páfrányokat és előnyitvatermőket), s a fennmaradó ősharasztokból 3 csoportot alakított ki:

1. Rhynia f. (villás elágazásúak),
2. Zosterophyllum f. monopodiálisba hajló villás elágazásúak,
3. Trimerophyton f. (főtengely spirálisan vagy villásan elágazó, álmonopodiális főtengely, oldalágak hármasan vagy villásan elágazók) fertilis tengelyképlet csúcsán párosan megnyúlt sporangium csoportok.

1981-ben Taylor és Stidd 8 magvaspáfrány csoportot (devontól a krétáig) különböztettek meg (Járai – Komlódi [8]).

A krétáig és a krétában történt nagy filogenetikai változások legjelentősebbje a zárvatermők megjelenése volt. A zárvatermők biztosan csak a kréta elején mutathatók ki. Kialakulásuk ideje bizonytalan. A korábban zárvatermőknek tartott, mezozoos triász, jura-időszaki makro- és mikroleletek bizonytalanok, ill. bebizonyítottan nem zárvatermők. Legtöbb leletről kiderült, hogy nyitvatermők maradványa. A bizonytalanság oka az, hogy nem összefüggők a mikro- és makro-leletek. Legtöbbször csak egyes szerveket képviselnek, melyben a zárvatermő jelleg nem egyszerre alakult ki. Ha ki is alakult a növényeken, nem mindjárt a mai zárvatermőknél ismert formákban mutatkozott.

Különböző makroleletek kerültek elő: levélmaradvány Szibériából, a neokomból (Vahrameev 1973) és a Potomac Flórából USA, barémi-apt rétegekből (Doyle et Hickey [3], 145.). Termésmaradvány (neokom) Franciaországból, Szibériából való, famaradványok a liliumfélékre?, ill. Tetracentron-ra utalóak. A maradványok általában kihalt típusok (Magnoliales, Nymphaeales, Ranunculales, Trochodendrales, Dilleniales, Hamamelidales-re utalók). Virágmaradvány, szaporító hajtás (Tiffney 1977) f. krétából az USA-ban került elő; Friis-Skarby (1982) lelete Juglandales-re utal. Magyarországon az Ajkai Formációból, f. kréta (szenon) rétegekben Rákosi L. 1984-ben mutatott ki virágmaradványokat. Virágporszemek alsó-kréta eredete igazolt (Van Campo 1971, Doyle et al. 1975, Walker 1976), csak szubmikroszkópos vizsgálattal különíthetők el az egybarázdás nyitvatermők pollenjeitől (Cikász, Ginkgo, Bennettites stb. félektől).

Hazai zárvatermő polleneket írtak le Góczán és Juhász 1976-ban. Ammonitesekkel meghatározott zónákból alsó-albai felső részéből monosulcat formákat találtak.

A virágporszemek általában rovarmegporzásra utalnak (egybarázdás, hálózatos szerkezetűek). A barrémban ritka pollenek, a világon egységesnek mondhatók, az egyszikűeknél és a Magnoliidae-nél található típusok az aptban gyakoribbak. Az albaiban már tricolpát pollenek, az albai-cenomanban már tricolporat formák, majd a cenomanban a Normapolles triporat formacsoport jelentkezik.

Eredetük kérdéses, miután a kialakulásuk idején élt nyitvatermőkről keveset tudunk. Különböző elméletek vannak: Monofiletikus elmélet hívei: Ehrendorfer (1977), Hickey és Doyle (1977), Soó (1965, 1975), Takhtajan (1959), Brenner (1976) stb., akik szerint a kettős megtermékenyítés, 8 magvú embriózsák nem alakult ki párhuzamosan többször.

A polifiletikus elmélet hirdetői azt tartják, hogy a recens növények adataira támaszkodni kevés, a kérdést csak paleontológiai bizonyítékok dönthetik el. Ezt az irányzatot képviselik: Greguss (1918, 1965), Cronquist (1975), Hughes (1977), Norris, Hedlund (1975) és sokan mások.

A zárvatermő jelleg különböző vonalakon jelentkezik és másodlagosan terjed. Zárvatermő típusok kialakulásáról ír: Cronquist (1968), Takhtajan (1959).

Egyszikűek kialakulási ideje is kérdéses. Az ősi pollenek ui. jellegteleneek, lehetséges, hogy már az apt-ban megjelentek, s makrofosszíliák is utalnak erre. Az egyszikűek kialakulására vonatkozóan valószínű, hogy lágyszárú vízi vagy kétéltű növényekből keletkeztek. A Nymphaeales és az Alismatales között a legnagyobb a hasonlóság, mindkettőn ősi zárvatermő bélyegek vannak.

Törzsfák közül a következőket emelem ki:

Zimmermann (1953—1959) közöl törzsfákat. Jellemzője, hogy a Schizophyceae külön ágat képvisel. A Flagellata-ból vezeti le a növény- és állatvilágot és a gombákat. A Thallophyta-ból, Chlorophyta-ból vezeti le a Psilophyta-kat. Ez utóbbiból a Lycopsida, Sphenopsida, Pteropsida, Gymnospermae, Angiospermae sorozatokat. Majd külön törzsfákat is közöl a nagyobb rendszertani egységek kialakulását ábrázolva (1959).

Némejc 1959-ben közölt törzsfájában az állat- és növényvilágot a Monophytákból vezeti le. A Psilopsidából erednek: a Lycopsida, Psynophyllopsida, Pteropsida és Sphenopsida ágazatok. A Pteridospermaphyta leszármazottjai a Lepidospermae, Dicranophyllopsida → Cordaitopsida és a Pteridospermopsida. A Dicranophyllopsida leszármazottjai a Gymnospermatophyta, amiből a Coniferopsida-t a Ginkgopsida-t és az Ephedrales-t is levezeti. A Pterido-

spermopsida-ból származtatja a Cycadopsida-t. A Gnetopsida eredetét bizonytalannak véli, valamint az Angiospermophyta-t is.

Němejč 1963-ban Psilophytákból kiindulva rajzol törzsfát, megadja a geológiai időt, orogeneziseket és a paleobotanikai korbeosztást. A Coniferae-eket az előnyitvatermőkből vezeti le és az Angiospermae-eket a magvaspáfrányokig vezeti vissza.

Greguss 1918-ban a Beih. Bot. Centralblatt-ban felveti a trifiletikus elméletét. 1955-ben a "Xylotomische Bestimmung der heute lebenden Gymnospermen" c. művében közli trifiletikus törzsfáját. 1965-ben: A szárazföldi növényvilág háromirányú (trifiletikus) fejlődéstörténete c. munkájában részletesen kifejti elméletét. Megállapítja az ivaros szaporodási formák (izogámia, homogámia és anizogámia) párhuzamos jelenlétét a növényvilágban, az egysejtűektől kezdődően. S ezzel egyidejűleg a Chlorophyceae-től kiindulva legfőbb morfológiai sajátosságként — az elágazási formákat figyelembe véve — állítja fel genetikai sorait, monopodiális, dichotomikus és verticillatus alakköröket különböztetve meg, Sporophyta és Spermatophyta taxonokon is. A virágosoknál az egyszikűeket, a kétszikűeknél a Monochlamydae, Amentiflorae-akat teszi a hímnősvirágú kétszikűek elé.

1975-ben Asama: The origin of the Angiosperms, Evolutionary Biology in Plants. IV. kötetében ismerteti Greguss szárazföldi növényekre vonatkozó trifiletikus elméletét és törzsfáját is ábrázolja [1].

Nair 1979-ben megjelent: The palynological basis for the triphyletic theory of angiosperms c. dolgozatában [9] a Prevascularis növényekből a prekambriumban indítja a fejlődést, de az összefüggéseket bizonytalanul jelzi. Az Angiospermae-eket — Pteridospermae rokonságra való utalással — a Protangiospermae-ből három irányba ágaztatja:

1. Monocotyledones,
2. Magnolia-szerű dicotyledones (apertúra nélküli mono- és trichotomosulcat), ill.
3. bizonytalan kétszikű Rhanales csoportot különítve el.

Érdekes gondolata a Pteridospermae proximalis apertúráinak a primitív gymnospermae disztális apertúráivá való átalakulása, amely szerint a monoaper-túrát angiospermae-nél is disztális helyzetűnek tartja az apertúra helyzetét.

A Monocotyledones vegetatív morfológiája és eusporangiát Pteridophyták hasonlósága filogenetikei ősi eredetre utal.

A Magnoliales trimorph szerkezete idősebbnek mutatkozik a Ranales új morphoformáinál.

A s a m a 1981-ben "Triphyletic evolution of vascular plants" c. dolgozatában [2] a levélnagyság és -típus változásokat a klíma- és környezetváltozásokkal hozza kapcsolatba. Három típusú edényes növényt különböztet meg: Microphyta (Lycopsida), Arthrophyta (Sphenopsida), Macrophyta (Pteropsida). Ezeknek a fejlődése külön-külön történik. Három törzsfát rajzol, mindenütt regresszív és progresszív evolúciót tételezve fel:

1. Microphytáknál a regresszív evolúció Lycopodiales-hez, a progresszív evolúció Coniferales-hez vezet.
2. Arthrophytánál a regresszív evolúció Equisetales-hez, a progresszív evolúció Graminae-hez vezet.
3. Macrophytáknál a regresszív evolúció a recens páfrányokhoz vezet, a progresszív evolúcióval a recens dicotyledonest származtatja.

S o ó Rezső számos törzsfát ábrázol Angiospermae vonatkozásában, s az Angiospermae-nél saját elméletét ábrázolja.

J á r a i n é K o m l ó d i M a g d a (1982) A növényvilág fejlődéstörténete című munkájában a növényi törzsfát a Zöldmoszatból (Chlorophyceae) vezeti le. Ősharasztok, Rhyniaceae: a szilur végén jelentkeznek. Ezekből vezeti le a Zosterophyllaceae-t, őskorpafüveket, a Pikkelyfákat és a korpafüveket; a Trimerophytaceae-ből az őszurlókat, a zsurlófákat és a zsurlókat; az őspáfrányokból a páfrányokat; az Archeopteridales-ből (előnyitvatermők) a fenyőket. A Ginkgók eredete bizonytalan. Aneurophytales-ből (előnyitvatermő), magvas páfrányokból vezeti le a Gnetumokat, cikászokat, Caytoniákat, Bennetiszeket. Az előzárvatermők eredete bizonytalan. A krétában az egy- és két-szikűek is megtalálhatók. Fejlődési oldalágakként említi a gombákat devontól kezdődően (polifiletikusak), és mohoknak a zöldalgákkal, ősharasztokkal való kapcsolatait.

S t e w a r t, W. 1983-ban a "Paleobotany and the evolution of plants" c. munkájában [13] több korszerű törzsfát ábrázol. Figyelemreméltó, hogy egyes területeken többféle filogenetikai vonalat is megjelöl, kifejezve különböző kutatók (pl. Florin, Beck) véleményét.

A mai ismeretanyag alapját felállított törzsfák természetesen még sok ?-t, bizonytalanságot tartalmaznak, amelyeket majd a további kutatási adatok tudnak kiegészíteni.

IRODALOM

1. Asama, K. (1975): The origin of the Angiosperm. Evolutionary biology in plants. IV. Sans. Co. Ltd., Tokio, 1—400.
2. Asama, K. (1981): Triphyletic evolution of vascular plants. The Palaeobotanist, 28—29, 413—422.
3. Doyle, J. A., Hickey, L. J. (1976): Pollen et leaves from the Mid-Cretaceous Potomac-Group and their bearing on early Angiosperm evolution. In: Beck, C. B. (ed.): Origin and early evolution of Angiosperms. Columbia Univ. Press, New York, 139—205.
4. Greguss, P. (1918): Ein Gedanke zur polyphyletischen Entwicklung der Pflanzenwelt. Beiheft z. Bot. Zentralblatt, 36, 229—269.
5. Greguss, P. (1955): Xylotomische Bestimmung der heute lebenden Gymnospermen. Akadémiai Kiadó, Budapest, 1—308.
6. Greguss, P. (1965): A szárazföldi növényvilág háromirányú (trifiletikus) fejlődéstörténete. Szegedi Nyomda, Szeged, 1—46.
7. Hughes, N. F. (1976): Paleobiology of angiosperm origin. Cambridge Univ. Press, New York, 1—242.
8. Járainé Komlódi Magda (1982): A növényvilág fejlődéstörténete. In: Vida G. (szerk.): Evolúció II., Mezög. Kiadó, Budapest, 37—110.
9. Nair, P. K. K. (1979): The palynological basis for the trephyletic theory of angiosperms. Grana, 18, 141—144.
10. Němejč, F. (1959): Paleobotanika I., Naklad. Ceskoslov. Acad. VED, Praha, 1—402.
11. Němejč, F. (1963): Paleobotanika II., Naklad. Ceskoslov. Acad. VED, Praha, 1—529.
12. Soó R. (1965): Fejlődéstörténeti növényrendszertan. Tankönyvkiadó, Budapest, 1—560.
13. Stewart, W. (1983): Paleobotany and the evolution of plants. Univ. Press, Cambridge, 1—405.
14. Takhtajan, A. (1959): Die Evolution der Angiospermen. VEB G. Fischer Vrlg., Jena, 1—344.
15. Zimmermann, W. (1953): Evolution. K. Alber Vrlg., Freiburg—München, 1—623.
16. Zimmermann, W. (1959): Die Phylogenie der Pflanzen, G. Fischer Verlag, Stuttgart, 1—777.

A LINEÁRIS EVOLÚCIÓ-KÉP KRITIKÁJA

ÚJHELYI MÁRIA

Semmelweis Orvostudományi Egyetem Marxizmus—Leninizmus Intézete, Budapest

Az utóbbi években újból fellángoltak a viták a biológiai evolúció körül a neodarwinizmus fogalmi apparátusát, konceptuális sémáját ért kritikák nyomán. Dolgozatom, amely a fejlődés lineáris modelljét bírálja, közvetve e vitákhoz kapcsolódik, mivel a fejlődés nem-lineáris jellegének értelmezésére — véleményem szerint — ugyancsak elégtelennek bizonyulnak a neodarwinizmus elvei.

A LINEÁRIS EVOLÚCIÓ-MODELL

Bármilyen paramétert vagy paraméter-együttest tekintsünk is az evolúció kritériumának, a fejlődés absztrakt modellje fejlettségi szintek lineárisan rendezett egymásutánját fogja tartalmazni, azaz olyan skála adódik, melynek kiindulópontján a legkevésbé fejlett, majd ettől a ponttól távolodva rendre fejlettebb és fejlettebb alakulatok foglalnak helyet.

Kérdés azonban, hogy ez az absztrakt — a maga nemében elfogadható — séma megfeleltethető-e a reális folyamatoknak, hogy az élővilág történeti változása is ilyen lineáris vonalat követ. Ez a kérdés nem arra vonatkozik, hogy elágazások vannak-e vagy nincsenek, hanem arra, hogy az elágazások és zsákutcák szövevényéből kiemelkedik-e egy töretlen genealógiai főáram.

Meglehetősen általánosnak tűnik az az elgondolás (és nemcsak a biológiai evolúció, hanem a társadalomtörténet vonatkozásában is), hogy a linearitás a tényleges leszármazási sorokban is érvényesül, tehát, hogy valamely progresszív forma a korábbi stádium legfejlettebb változatának folytatása lenne, s hogy létezik olyan filogenetikai sor, amelynek tagjai a mindenkori aktuális legfejlettebb formát testesítik meg.

Ennek az elvárásnak makacs továbbélése azért is feltűnő, mert különben közhelyszámba megy az a megállapítás, hogy a túlspecializált fajok fejlődés-

képtelenek, ami a másik oldalról azt jelenti, hogy valamely taxonómiai csoport továbbfejlődési potenciálját a kevésbé differenciált, a csoport jellemző jegyei szempontjából primitív formák hordozzák.

"Fontos tisztában lennünk azzal, hogy a haladás nem azonos a specializálódással... Egyetlen biztos adatunk sincs olyan magas fokon specializálódott vonalra vonatkozóan, amely új típus kiindulópontja lett volna. Minden új típus, amely adaptív radiációra képes volt, viszonylag kevésbé specializálódott ősi vonulatból származott" — állapítja meg J. Huxley [12].

Úgy látszik azonban, ez az összefüggés is azoknak a körébe tartozik, amelyeket minden konkrét területen újra fel kell fedezni és meg kell védelemezni. Részben valószínűleg azért, mert noha a jelenség széles körű, nem tűnik kötelező érvényűnek, nem világos egy olyan mechanizmus, amely törvényszerűvé tenné, illetve az ismert mechanizmusokból nem következik szükségképpen. Továbbá — ez a Huxley-idézetből is kitűnik —, nincs határozott kategoriális disztinkció az evolúción belül lehetséges különböző folyamatok között, nem világos, hogy milyen szempont alapján lehet elkülöníteni a "haladást", az "új típus megjelenését" a "specializálódástól", bár nyilván minden konkrét esetben meg lehet mondani.

A lineáris progresszivitás koncepcióját a sejtevolúcióra vonatkozó elméletekben szeretném bemutatni és kritika tárgyává tenni, ami azért is tűnik lényegesnek, mert a sejtfejlődés molekuláris eseményeinek feltárásában nem támaszkodhatunk fossziliákra — csupán az összehasonlításokból levonható következtetésekre —, hiányzik az abszolút kronológia, így bizonyos elméleti előfeltevések döntően befolyásolják a kialakítható képet.

A LINEÁRIS KONCEPCIÓ A SEJTFEJLŐDÉS ELMÉLETEIBEN

Az eukarióta sejt kétségkívül fejlettebb, mint a baktérium, az egyszerű sejt, megjelenésének időpontja is későbbre datálható. Természetesnek tűnik tehát az az elgondolás, hogy az eukarióta sejtet (az organelumok önálló genetikai állományának felfedezésével ez utóbbiakat is) a ma ismert baktériumokból, illetve ezek valamelyikéből származtassuk. Eszerint tehát az eukarióta sejt, illetve komponenseinek közvetlen őse valamely, a mai baktériumokhoz hasonló, fejlett prokarióta sejt [17, 27].

Ez azt jelenti, hogy az eukarióta sejt megjelenésekor a prokariótákra jellemző alapvető molekuláris szerveződésmód (replikáció, transzkripció, transláció, illetve az ezeket a folyamatokat hordozó struktúrák) készen

volt, elnyerte mai alakját, s ez a prokarióta szinten maximális fejlettségi stádium a bázisa az eukarióta továbbfejlődésnek. Így ez utóbbiban található szerveződmódot (és struktúrákat) a ma ismert bakteriális formákból mint előzményekből lehet és kell levezetni.

Néhány példa álljon itt ennek az eljárásnak az illusztrálására.

A riboszomális RNS nagy alegységének összehasonlító vizsgálata során kitűnt, hogy az eukarióta 5,8 S rRNS molekula homológ az *E. coli* 23 S rRNS-ének 5' terminusával, valamint az eukarióta 26–28 S rRNS a hiányzó régiót követően feleltethető meg a baktérium adott molekulájának. Ebből a tényből — noha önmagában csak a rokonság tényére utal — sokan habozás nélkül vonják le a változás irányára vonatkozó konklúziót, azt, hogy az eredetileg egységes molekula részekre szakadt, fragmentálódott [5, 13, 19].

Az intronok eredetével kapcsolatban szögezi le D. A p i r i o n, hogy az eukarióta sejt általános komplexitása és különösen a nukleusz komplexitása alapján el kell utasítani azt a hipotézist, hogy a megszakított génstruktúra ősibb lenne a folytonosnál [1].

Gyakoribb, mondhatni általános a prokarióta szerveződés kifejlett alakját az organellum-fejlődés kiindulópontjának tekinteni. Itt a lineáris séma erőltetését a megszokáson kívül, úgy látszik, az endoszimionta elmélet igazolási törekvése is motiválja. Minél világosabban kimutathatók az organellumokban a bakteriális sajátosságok, annál hitelesebb az elmélet. Így minden eltérést, ami az organellumokban, különösen a mitokondriumban tapasztalható, a bakteriális prekursorban bekövetkezett változásként, főleg degenerációként kell értelmezni, a transzlációhoz éppen hogy csak elegendő tRNS-ek számát tRNS-ek elvesztésével, vagy a kódnak az univerzális kódtól való eltérését az antikodonban bekövetkezett mutációval lehet magyarázni [2, 11, 27].

Annak az előfeltevésnek az alapján, hogy a mitokondriális fejlődés kiindulópontja a prokarióta genom struktúrája, megkonstruálható egy fejlődéstörténet a különböző mitokondrium-típusok számára, evolúciós mérceként a baktériumhoz viszonyított hasonlóság, illetve különbség mértékét alkalmazva. Így a zöld növények mitokondriuma a legősibb forma, mivel ez áll legközelebb a bakteriális prekursorhoz, örizte meg a legtöbb tipikusan bakteriális jegyet, míg az állati sejt mitokondriuma divergált legtávolabb [27]. Ez a séma egyben a mitokondriális fejlődés jellegét is megadja. Mivel az állati mitokondrium rendelkezik a legkisebb genommérettel, a legkevesebb, a minimálisan szükséges tRNS-sel, hiányoznak a nem kódoló régiók stb., a mitokondrium fejlődése az egyszerűbb, redukáltabb formák felé tart. Tehát a proto-mitokondrium mint önálló baktérium a szimbiózist megelőzően rendelkezett a bakteri-

umra jellemző teljes genetikai apparátussal, amit a szimbiózist követően progresszíven elvesztett. Majd az egyszerűsödés tovább tartott a gazdasejtek progressziójával együtt, míg az állati sejtben érte el a legfejlettebb, azaz a legegyszerűbb, legtömörebb formát [9, 27].

Kétségtelen, hogy ez az interpretáció számos tény koherens magyarázatát tudja nyújtani. A mitokondriumban a mutációs ráta sokszorosa a független sejtekben előfordulónak, így a kódot érintő mutációk is előfordulhatnak. Egy szimbiózis során a résztvevő, ráadásul alárendeltebb szerepet játszó komponensnek szükségképpen egyoldalúbbá, redukáltabbá kell válnia, így a redukció végbemehetett nemcsak a mitokondriális géneknek a nukleuszba való átvándorlása, hanem a teljes elvesztés formájában is, amelynek során tehát tRNS-ek, rRNS-ek, génszakaszok, spacerok, intronok egyaránt kieshetnek.

Mindezek ellenére vannak olyan mozzanatok, amelyek zavarják ezt a képet.

ELLENÉRVEK A LINEÁRIS KONCEPCIÓVAL SZEMBEN

Már jó néhány éve felvetődött — az archebaktériumoknak az igazi baktériumoktól való radikális elkülönítése kapcsán —, hogy a három alapvető sejt-típus lényegében egyidőben divergált a mai sejtes formát megelőző proto-sejtből (progenote, ahogy Woese és Fox nevezi) [29].

A prokarióta sejt tehát legalábbis nem ősbibb, mint az ős-karióta, vagyis a nukleáris sejt. Sőt, a nukleusz közelebbi rokonsága az archebaktériumokkal, különösen a Thermoplasmával, a prokariótákhoz képest archaikusabb eredetet sugall.

Az a lehetőség, hogy a nukleáris genom struktúrája az ősbibb állapot bizonyos jegyeit őrzi, az intronok felfedezése kapcsán vetődött fel néhány évvel ezelőtt [6, 7]. Ezt a feltevést néhány, azóta elvégzett vizsgálat megerősítette, legalábbis az intronok egyes fajtáival kapcsolatban. Így kiderült, hogy míg az igazi baktériumok génjei nem tartalmaznak intronokat, archebaktériumok tRNS génjei azonban igen [14]. Még figyelemreméltóbb az a felfedezés, hogy néhány eukarióta egycsőtű szervezetben a nagy rRNS intronja önmaga katalizálja a kivágást és az exonok összekapcsolását, tehát egy RNS szekvencia enzimeként funkcionál, ami valószínűleg egy nagyon ősi mechanizmus relikviája [4, 28].

Nem mondható tehát, hogy az eukarióta sejt (pontosabban a nukleáris sejt) a molekuláris szerveződés tekintetében kiteljesedett prokarióta továbbfejlődése lenne. A nukleáris genom nem járta végig a baktériumok útját

mielőtt saját fejlődése megindult, a molekuláris evolúciónak korábbi, primitívebb stádiumában elvált attól, s több primitív jegyet megőrizve egy más típusú, bár végső soron nagyobb fejlődési potenciált biztosító utat realizált. "A mai prokarióták és eukarióták ősei szétváltak egymástól és külön utakon fejlődtek még mielőtt a genetikai organizáció problémái a végső megoldáshoz eljutottak volna" — állapítja meg W. Doolittle [8].

A mitokondriumok eredetével kapcsolatban is felmerül a kifejlett prokarióta stádiumhoz képest korábbi időpontra datálás lehetősége, ami azt jelentené, hogy a mitokondrium különös tulajdonságait nem degenerációnak kell tekinteni, hanem igen ősi, valószínűleg még a prokarióta-eukarióta szétválást is megelőző sejtfejlődési stádium maradványának. Ezt a lehetőséget több szerző is felveti, de kevésbé valószínű alternatívaként kezeli, pl. Bonitz és Mtsai [2], Gray és Doolittle [10], Heckman és Mtsai [11]. Ismereteim szerint egyedül R. Mikel Saar képviseli következetesen ezt a koncepciót [18].

Tekintsünk át néhány szempontot a fenti hipotézis alátámasztására. Az érvelés szempontjából releváns jegyeket három csoportba sorolhatjuk, a mitokondriumokat egymástól elkülönítő, az eukariótákra jellemző, valamint a közvetlenül archaikusnak mutatkozó jegyek csoportjára.

Az alapvető mitokondrium-típusok nemcsak a gazdasejt vagy saját méretbeli különbségeik alapján különíthetők el egymástól, mélyebb, a genetikai organizációt és a kódot érintő eltérések tapasztalhatók közöttük. Az állati mitokondriumban az AGA/AGG kodon stop kodonként funkcionál, míg a gombában — az univerzális kódnak megfelelően — arginint kódol. A növényi mitokondriumban a CGG triptofánt kódol arginin helyett [17].

A riboszómák felépítése mind az RNS-molekulák, mind a fehérjekomponensek száma tekintetében eltérő. 5 S rRNS csak a növényi mitokondriumban található, az állati és gomba mitokondriumból hiányzik, a riboszóma nagy alegységéhez kapcsolódó fehérjék száma gomba mitokondriumban 38, emlősökében 52 [15].

A riboszóma RNS kis alegységének 3' terminális régiója igen konzervatív az egész élővilágban. Ezért a konzerváción belül mutatkozó variációknak szignifikáns jelentőségük van. Az eltérés két nagy csoportra osztja a sejteket, illetve organellumokat: az egyiket a Gram-negatív baktériumok, eukarióták, a növényi és gomba mitokondrium, a másikat a Gram-pozitív baktériumok, a kloroplaszt és az állati mitokondrium alkotja [25]. Ez az eredmény megerősíti az rRNS génszekvenciák elemzése alapján korábban felállított hipotézist a mitokondriumok polifiletikus eredetéről, azt ti., hogy a proto-mitokondrium még a szimbiózist megelőzően szétkülönült az alapvető típusokra [16].

Bár a polifiletikus eredet önmagában még nem bizonyítja a mitokondriumok ősi voltát — Van Knippenberg és mtsai is csak annyit mondanak, hogy eredményeik a különböző bakteriális eredet irányába mutatnak [25] — közvetve mégis valószínűsíti. Ugyanis egy kifejlett bakteriális prekursor redukcióját csakis a szimbiózis tényével, a függővé válással, a gazdasejtnek az organellum felé jelentkező szelekciós nyomásával lehet magyarázni. Ha azonban a devianciák már a szimbiózist megelőzően is jellemezték a proto-mitokondriumokat, ez arra utal, hogy a prokarióta szintet még el nem ért sejttypusról van szó.

Vannak azonban az ősiségre közvetlenebbül utaló mozzanatok. Mindenekelőtt van néhány olyan mechanizmus a mitokondriumokban, amely tipikus eukarióta sajátosság, vagy rajtuk kívül csak az archebaktériumoknál található. A tRNS-ek CCA 3' terminálisa sem a nukleuszban, sem az archebaktériumokban, sem a mitokondriumokban nincs a génben kódolva — szemben a baktériumokkal —, poszttranszkripcionálisan kapcsolódik a tRNS-ekhez [10].

A gomba mitokondrium rRNS nagy alegységének génje néhány eukariótához hasonlóan szintén tartalmaz intront, melynek bázisszekvenciája, másodlagos szerkezete és a "splicing" mechanizmusa a Tetrahymena rRNS intronjával közeli rokonságot mutat, amely egyébként enzimműködés hordozójának bizonyult [4, 28].

A riboszomális RNS nagy alegységének 5' terminális régiója háromféleképpen szerveződik meg. Baktériumokban és a kloroplasztok egyik típusában a molekula folytonos, a Paramecium mitokondriumában [22] és a Chlamydomonas reinhardtii kloroplasztjában [21] a nukleuszhoz hasonlóan fragmentált, bár a fragmentumok méretei nem azonosak. Gomba és emlős mitokondriumban viszont a fragmentumoknak megfelelő régiók teljesen hiányoznak [3].

A tipikusan eukarióta jegyek meglétére a mitokondriumban két magyarázat lehetséges. Az egyik az organellumok eredetének autogén elmélete, amely a nukleáris genom kompartmentalizációjának tulajdonítja az organellum genomok létrejöttét [17]. Ez kézenfekvő magyarázatát adja az intronok vagy az rRNS fragmentumok nukleáris jellegű előfordulásának, de nehézséget jelent a tipikusan bakteriális jegyek interpretálása.

A másik magyarázat az organellumok primitív evolúciós státusának hipotézise alapján lehetséges, amely egységet teremt az ellentmondó tulajdonságok között. Eszerint a két alapvető sejttypusra jellemző jegyek együttes előfordulása a szétválást és különfejlődést megelőző differenciálatlan állapot maradványa a mitokondriumban.

Ezt a lehetőséget a transzkripció és transláció primitív mechanizmusai támogatják, amelyeket kevésbé lehet leegyszerűsödésnek (gének, génszakaszok elvesztésének) tulajdonítani.

Az állati mitokondriumban a DNS mindkét szála átíródik, mindkét DNS szálnak teljes rNS kópiája keletkezik, s ez utólag darabolódik fel tRNS, rRNS és mRNS molekulákra. Az átírás szabályozási mechanizmusa tehát teljesen hiányzik [9]. Ugyancsak az állati mitokondriumban a metionin tRNS-nek csak egyetlen génje van, az iniciátor és elongátor metionin tRNS-t csak az előbbi poszttranszkripcionális formilálása különíti el egymástól. R. M i k e l s a a r, aki eredetileg az állati mitokondrium magas A + U tartalmára alapozta "archigenetikus hipotézisét", újabb munkájában a metionin tRNS evolúcióján keresztül bizonyítja a mitokondriumok ősiségét [18].

Végül még egy adalék. Az állati mitokondriumban olyan tRNS található, melynek teljes D hurok struktúrája hiányzik. Ilyen típusú tRNS-ek az 5 S rRNS előzményei lehettek [24]. Egyébként tRNS-ek csonka, D hurok nélküli formáját mint ősi formát feltételezték már a genetikai kód keletkezésének irodalmában — ezek tényleges reprezentánsának felfedezése előtt [23].

A mitokondriumok ősi voltának elfogadása a mitokondriális evolúcióra vonatkozó képet is érinti. Ebben a megközelítésben a baktériumhoz leginkább hasonló növényi mitokondrium mutatkozik újabb fejleménynek, míg az állati sejt mitokondriuma ezen a vonulaton belül is a legarchaikusabb [18]. Nem szükségképpen tehát, hogy a legfejlettebb sejttípusokban legyenek a legfejlettebb organelumok. Erre a lehetőségre már G r a y is felhívta a figyelmet, bár a mitokondriumoknak mint egész csoportnak az eredetét illetően nem foglal egyértelműen állást. "Tartózkodni kell attól az előítélettől — mondja —, hogy az organelumok fejlettségét a gazdasejttel szükségképpen azonos szintűnek tekintsük" [9]. Az egysejtű és soksejtű szervezetek organelumainak összehasonlításakor W a l l a c e is arra a következtetésre jut, hogy az "egysejtűekben szabad marad a fejlődés az organelumok számára, míg a soksejtűkében megmaradtak a primitív jegyek" [27], hogy tehát a gazdasejtek és organelumok fejlettségi szintje eltérő, de az ebből — véleményem szerint — nyilvánvaló következtetést a mitokondriumok eredetére ő sem vonja le.

Azt látjuk tehát, hogy a prokarióta sejthez képest fejlettebb, differenciáltabb funkciókat realizáló, összetett eukarióta sejt részben olyan struktúrákból épül fel, azaz olyan részstruktúrákat is tartalmaz, amelyek primitívebbek, mint prokarióta analogonjaik. Tehát a fejlettebb, komplexebb totális rendszer bizonyos elemei, részstruktúrái primitívebb fejlettségi stádiumban konzerválódhatnak, mint egy másik, a totális rendszer szempontjából egyszerűbb fejlettségi fok azonos elemei.

A NEM-LINEÁRIS FEJLŐDÉS ÉRTELMEZÉSE A RENDSZERSZEMPONT ALAPJÁN

Az a megállapítás, hogy a komplexebb rendszer archaikusabb részstruktúrákat megőrizve épül ki, lényegében azonos azzal a tétellel, hogy a túlspecializált fajok nem fejlődőképesek, illetve, hogy a fejlettebb formák a kevésbé specializálódott, ősből állapotból erednek.

Rendszerkategóriák felhasználásával azonban lehetőség nyílik arra, hogy a "specializáció" és "progresszió" folyamatai között pontosabb, kategoriális disztinkciót tegyünk, s egyben a fejlődés nem-lineáris vagy nem-folytonos jellegét törvényszerűségeként fogjuk fel.

Az élő rendszerek belsőleg egységet alkotnak, a bennük végbemenő folyamatok szabályozottak, kölcsönösen egymást feltételezve mennek végbe. A rendszereknek ez az állapota azonban nem kész adottság, az élő bármely egyéb meghatározottságához hasonlóan történet eredményeképp jön létre. Tehát van olyan stádium, amikor a belső folyamatok összehangoltsága, kölcsönös függősége gyenge, a rendszert alkotó struktúrák integráltsági foka alacsony. Az evolúció a rendszer vonatkozásában a rendszerszerveződés, a rendszerműködés optimalizálásának folyamatoként jelenik meg. Nem mondható ugyanakkor — ahogy bármely más kritérium esetében sem —, hogy az élővilág története egyetlen, azonos szerveződési elven alapuló rendszertípus kibontakozásának homogén folyamata lenne. Megjelennek új szerveződési elven nyugvó rendszerek, radikális esetben olyan átfogóbb integrációk, amelyek más rendszereket elemként foglalnak magukban (mint például az eukarióta sejt, vagy a soksejtű organizmus).

Az új szerveződéselvű rendszerek más mechanizmusok eredményeként jönnek létre, mint az adott elv keretei között lehetséges optimalizálódás.

Az evolúció e két alapvető tendenciáját nevezzük totalizációnak, mivel a rendszer teljessé, totálissá válásának folyamatát reprezentálja, illetve komplexitásnövekedésnek, mivel egy új szerveződési elv szükségképpen igényli új struktúrák belépését a rendszerbe (amelynek konkrét formája a kompartmentalizáció is lehet) vagy elemibb szintű rendszerek integrációját. (Komplexitásnövekedés alatt tehát nem pusztán valamilyen mennyiségi növekedést értek, hanem az elkülönülten funkcionáló struktúrák számának és a struktúrák közti viszonyhálózatnak a növekedését.)

Komplexebb rendszerek elemibb szintű rendszerekből jönnek létre, de nem az elemibb szint totalizált, az adott elemibb szinten lehetséges legfejlettebb rendszereiből. Ugyanis minél inkább eléri egy rendszer saját rendszerműködésének optimumát, minél teljesebb a struktúrák kölcsönfüggése és szabá-

lyozottsága, annál kevésbé engedi meg új struktúrák beépülését vagy azt, hogy maga egy átfogóbb rendszer részévé váljon. A totalizált rendszerek vagy stabilizálódnak, vagy felbomlanak, de egy magasabb szintű fejlődés számára zsákutcának bizonyulnak. És viszont. A komplexebbé válás lehetősége (és talán kényszere a totalizálódó rendszer aktuális sikerével szemben) a szerveződés optimumát még el nem ért elemibb szintű rendszerekben adott. Azaz a komplexebb rendszer az elemibb szinten lehetséges fejlődés primitívebb stádiumában ered. Ezek alapján nemcsak valószínűnek, hanem szükségképpennek tűnik, hogy az eukarióta sejt felé tartó fejlődési út elváljon a prokariótákétól még mielőtt ez utóbbi kiteljesedett volna, tehát azok a sejtípusok, amelyek az eukarióta integráció alkotó rendszerei lehettek, nem érték még el a mai prokarióták fejlettségi szintjét.

A komplexebb rendszer fejlődése tehát az elemibb szint primitív stádiumában indul el, egyszersmind őrzi e primitív stádium jegyeit.

Azokban a rendszerekben, ahol már meglévő struktúrák között megy végbe a totalizáció, az adott struktúrák szükségképpen módosuláson mennek keresztül. Azokban a rendszerekben, amelyekbe új struktúrák kerülnek, ezeknek be kell épülniök a meglévők közé, meglévő struktúrák és folyamatok között kell közvetíteniök. Így a komplexebbé vált rendszerekben az ezen a szinten újból meginduló totalizáció a közvetítő struktúrákon keresztül, az általuk hordozott közvetítő folyamatokon keresztül valósul meg, ezzel az átöröklött struktúrák egy része konzerválódik. Egy rendszernek tehát nem minden struktúrája lesz azonos fejlettségi szinten, s a rendszer egész fejlődése néhány elemi struktúra konzervációja mellett valósul meg. Ebből tovább az is következik, hogy az elemibb és komplexebb rendszerek analóg struktúráit összehasonlítva, az utóbbiak archaikusabbnak, primitívebbnek mutatkoznak. Így lehetséges, hogy a fejlett eukarióta sejtben az elemi molekuláris struktúrák a prokariótához képest primitívebb állapot jegyeit is megőrizték.

Bár a szétkülönülés az elemibb szinten maradó és a potenciálisan komplexebbé váló rendszerek között korai stádiumban bekövetkezik, mégis adódik egy olyan látszat, mintha az utóbbi az elemibb rendszer teljes kifejlése után jelenne meg. Ennek oka a fejlődési tempók különbözőségében van. A közvetlenül totalizálódó rendszerekben a rendszer önszabályozottságának, koherenciájának kiépülése, s ezzel a rendszer sikeres működésének az elérése rövidebb idő alatt következik be, mint a másik úton, ahol az új struktúrák belépése vagy idegen rendszerek összekapcsolódása átmenetileg éppen hátráltatják a struktúrák optimális együttműködésének elérését. Ezen rendszerek sikerét, felvirágzását, tehát látszólagos megjelenését hosszabb lappangási idő előzi meg.

Az elméleti megfontolások és az összehasonlító vizsgálatok eredményei után most már arra lenne szükség, hogy az eukarióta sejt, illetve sejtalkotóinak korai jelenlétét a bioszférában más módszerekkel is ki tudjuk mutatni. Az utóbbi idők néhány közleménye alapján, úgy látszik, lesz erre lehetőség. G. Vidal beszámol olyan, az eukarióta zöldalgákra emlékeztető mikrofoszsziliákról, amelyek 1,6–1,4 milliárd évesek — jóval régebbiek tehát, mint amelyekről eddig ismereteink voltak —, s mint mondja, ebben az időszakban már nagy diverzitásuk volt [26]. Más vizsgálatok szerint már igen korai földtörténeti korban, legalábbis lokálisan, kellett lennie szabad oxigénnek [20]. Ez mindenesetre reálissá teszi a protomitokondrium ősi voltának feltételezését.

I R O D A L O M

1. Apirion, D. (1983): RNA processing in a unicellular microorganism: Implications for eukaryotic cells. Progr. in NAR nad Mol. Biol., 30, 1–40.
2. Bonitz, S. G., Berlani, R., Coruzzi, G., Li, M., Macino, G., Nobrega, F. G., Nobrega, M. P., Thalenfeld, B. E. and Izagoloff, A. (1980): Codon recognition rules in yeast mitochondria. Proc. Nat. Acad. Sci., 77, 3167–3170.
3. Branlant, C., Krol, A., Machatt, M. A., Pouyet, J. and Ebel, J.-P. (1981): Primary and secondary structures of Escherichia coli MRE 600 23 S ribosomal RNA. Comparison with models of secondary structure for maize chloroplast 23 S rRNA and for large portions of mouse and human 16 S mitochondrial rRNAs. Nucl. Acids Res., 9, 4303–4323.
4. Cech, T. H., Tanner, N. K., Tinico, I., Weir, B. R., Zucker, M. and Perlman, P. S. (1983): Secondary structure of the Tetrahymena ribosomal RNA intervening sequence: Structural homology with fungal mitochondrial intervening sequences. Proc. Nat. Acad. Sci., 80, 3903–3907.
5. Clark, C. G. and Gerbi, S. A. (1982): Ribosomal RNA evolution by fragmentation of the 23 S progenitor: Maturation pathway parallels evolutionary emergence. J. Mol. Evol., 18, 329–336.
6. Darnell, J. E. (1978): Implications of RNA-RNA splicing in evolution of eukaryotic cells. Science, 202, 1257–1260.
7. Doolittle, W. F. (1978): Genes in pieces. Were they ever together? Nature, 272, 581–582.
8. Doolittle, W. F. (1982): Evolutionary molecular biology: where is it going. Can. J. Biochem., 60, 83–90.
9. Gray, M. W. (1982): Mitochondrial genome diversity and the evolution of mitochondrial DNA. Can. J. Biochem., 60, 157–171.
10. Gray, M. W. and Doolittle, W. F. (1982): Has the endosymbiont hypothesis been proven? Microbiol. Reviews, 46, 1–42.

11. Heckman, J. E., Sarnoff, J., Alzner-Deweerd, B., Yin, S. and Rajbhandary, U. L. (1980): Novel features in the genetic code and codon reading patterns in Neurospora crassa mitochondria based on sequences of six mitochondrial tRNAs. Proc. Nat. Acad. Sci., 77, 3159—3163.
12. Huxley, J. (1942): Evolution: The modern synthesis. London.
13. Jacq, B. (1981): Sequence homologies between eukaryotic 5,8 S rRNA and the 5' end of prokaryotic 23 S rRNA: Evidences for a common evolutionary origin. Nucl. Acids Res., 9, 2913—2932.
14. Kaine, B. P., Gupta, R. and Woese, C. R. (1983): Putative introns in tRNA genes of prokaryotes. Proc. Nat. Acad. Sci., 80, 3309—3312.
15. Kozak, M. (1983): Comparison of initiation of protein synthesis in prokaryotes, eucaryotes and organelles. Microbiol. Reviews, 47, 1—45.
16. Küntzel, H. and Köchel, H. G. (1981): Evolution of rRNA and origin of mitochondria. Nature, 293, 751—755.
17. Mahler, H. R. (1983): The exon-intron structure of some mitochondrial genes and its relation to mitochondrial evolution. Internat. Rev. Cytology, 82, 1—98.
18. Mikel Saar, R. (1983): Human mitochondrial genome and the evolution of methionine transfer ribonucleic acids. J. Theor. Biol., 105, 221—232.
19. Otsuka, T., Nomiya, H., Yoshida, H., Kukita, T., Kuhara, S. and Sakaki, Y. (1983): Complete nucleotide sequence of the 26 S rRNA gene of Physarum polycephalum: Its significance in gene evolution. Proc. Nat. Acad. Sci., 80, 3163—3167.
20. Pflug, H. D. (1984): Early geological records and the origin of life. Naturwissenschaften, 71, 63—68.
21. Roxhaix, J.-D. and Darlix, J.-L. (1982): Composite structure of the chloroplast 23 S ribosomal RNA genes of Chlamydomonas reinhardtii. Evolutionary and functional implications. J. Mol. Biol., 159, 383—395.
22. Seilhamer, J. J., Gutell, R. R. and Cummins, D. J. (1984): Paramecium mitochondrial genes. II. Large subunit rRNA gene sequence and microevolution. J. Biol. Chem., 259, 5173—5181.
23. Tyagi, S. (1981): Origin of translation: The hypothesis of permanently attached adaptors. Origins of Life, 11, 343—351.
24. Újhelyi, M. (1983): The possible common origin of tRNA and 5 S rRNA. Z. Naturforsch., 38 C, 501—504.
25. Van Knippenberg, P. H., Van Kimmenade, J. M. A. and Heus, H. A. (1984): Phylogeny of the conserved 3' terminal structure of the RNA of small ribosomal subunits. Nucl. Acids Res., 12, 2595—2604.
26. Vidal, G. (1984): The oldest eukaryotic cells. Scientific American, 250, 32—41.
27. Wallace, D. C. (1982): Structure and evolution of organelle genomes. Microbiol. Reviews, 46, 208—240.
28. Waring, R. B., Scazzocchio, C., Brown, T. A. and Davies, R. W. (1983): Close relationship between certain nuclear and mitochondrial introns. Implications for the mechanism of RNA splicing. J. Mol. Biol., 167, 595—605.
29. Woese, C. R. and Fox, G. E. (1977): Phylogenetic structure of the prokaryotic domain: The primary kingdoms. Proc. Nat. Acad. Sci., 74, 5088—5090.

HIBAIGAZÍTÁS

az "Autogenezis: önszervező rendszerek evolúciója" (Biológia 1984, 32, 3—23.) c. dolgozatunk Függelékében a nyomda ördöge a szerzőkkel együttműködve több hibát helyezett el. Ezek közül értelemzavarónak bizonyultak a következők:

- (1) a 18. old. 25. sorában, majd többször: T_{S_i} helyesen T_{S_i} .
- (2) a 20. old. 1. sorában $A_3 \longrightarrow A_3$ helyett $A_3 \xrightarrow{r} A_3$ írandó (majd többször hasonlóan, ahol a szöveg replikációt említ).
- (3) a 20. old. utolsó képletében
 $f_{S_e}(j, i, M_t)$ helyesen $f_{F_1} * (j, i, M_t)$
- (4) az 5.1., 5.2., 5.3. Definíciókban az abszolút érték jele elhagyandó. Ez a kézirat egy korábbi változatából származik és a jelen változatban hibát okoz (a 21. old. 8—11. sorában bizonyos szélsőértékekkel kapcsolatban).

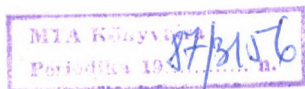
Csányi Vilmos és Kampis György

A kiadásért felelős az Akadémiai Kiadó és Nyomda főigazgatója

Műszaki szerkesztő: Sándor István

Terjedelem: 11,90 (A/5) ív

87. 16 301 Akadémiai Kiadó és Nyomda, Budapest. — Felelős vezető: Hazai György



MAGYAR
TUDOMÁNYOS AKADÉMIA
KÖNYVTÁRA

Terjeszti a Magyar Posta

Előfizethető bármely hírlapkézbesítő postahivatalnál, a Posta hírlapüzleteiben és a Hírlapelőfizetési és Lapellátási Irodánál (HELIR) 1900 Budapest V., József nádor tér 1., közvetlenül vagy postautalványon, valamint átutalással a HELIR 215-96 162 pénzforgalmi jelzőszámra, Előfizethető és példányonként megvásárolható az *Akadémiai Kiadónál* (1363 Budapest, Alkotmány utca 21., tel.: 111-010) és az Akadémiai Kiadó *Stúdium* (1368 Budapest, Váci utca 22., tel.: 185-881) és *Magiszter* (Budapest, Városház utca 1., tel.: 382-440) könyvesboltjaiban.

Előfizetési díj egy évre: 33,— Ft

Egy szám ára: 66,— Ft

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

Ára: 33 Ft

Előfizetés egy évre: 66 Ft

ISSN: 0133—3844

TARTALOM

SÁNDOR ISTVÁN: Embrióátültetés kísérleti állatokon és emberen	77
BERENCSI GYÖRGY: Daganatkeltő genetikai szabályozó körök (celluláris onkogének)	119
TÓTHMÉRÉSZ BÉLA: Az elméleti ökológia (egy lehetséges) megalapozásának stratégiája . . .	131
KISZELY GYÖRGY: Ernst Haeckel (1834—1919)	147
NAGY ISTVÁN ZOLTÁN: Ernst Haeckel természettudományos jelentősége	153
JUHÁSZ-NAGY PÁL: Haeckel és az elméleti biológia	161
DETRE CSABA: A monizmus: az egyetlen és a genetikailag egységes világ felismerése	171
DETRE CSABA: Az élővilág dinamikus evolúciós törzsfamodelle	175
KORDOS LÁSZLÓ: Haeckel — törzsfamodelle — evolúció rendszerezés	183
NAGY LÁSZLÓNÉ: A növényvilág törzsfamodelle	193
ÚJHELYI MÁRIA: A lineáris evolúció-kép kritikája	201
Hibaigazítás (Csányi V. és Kempis Gy.)	213