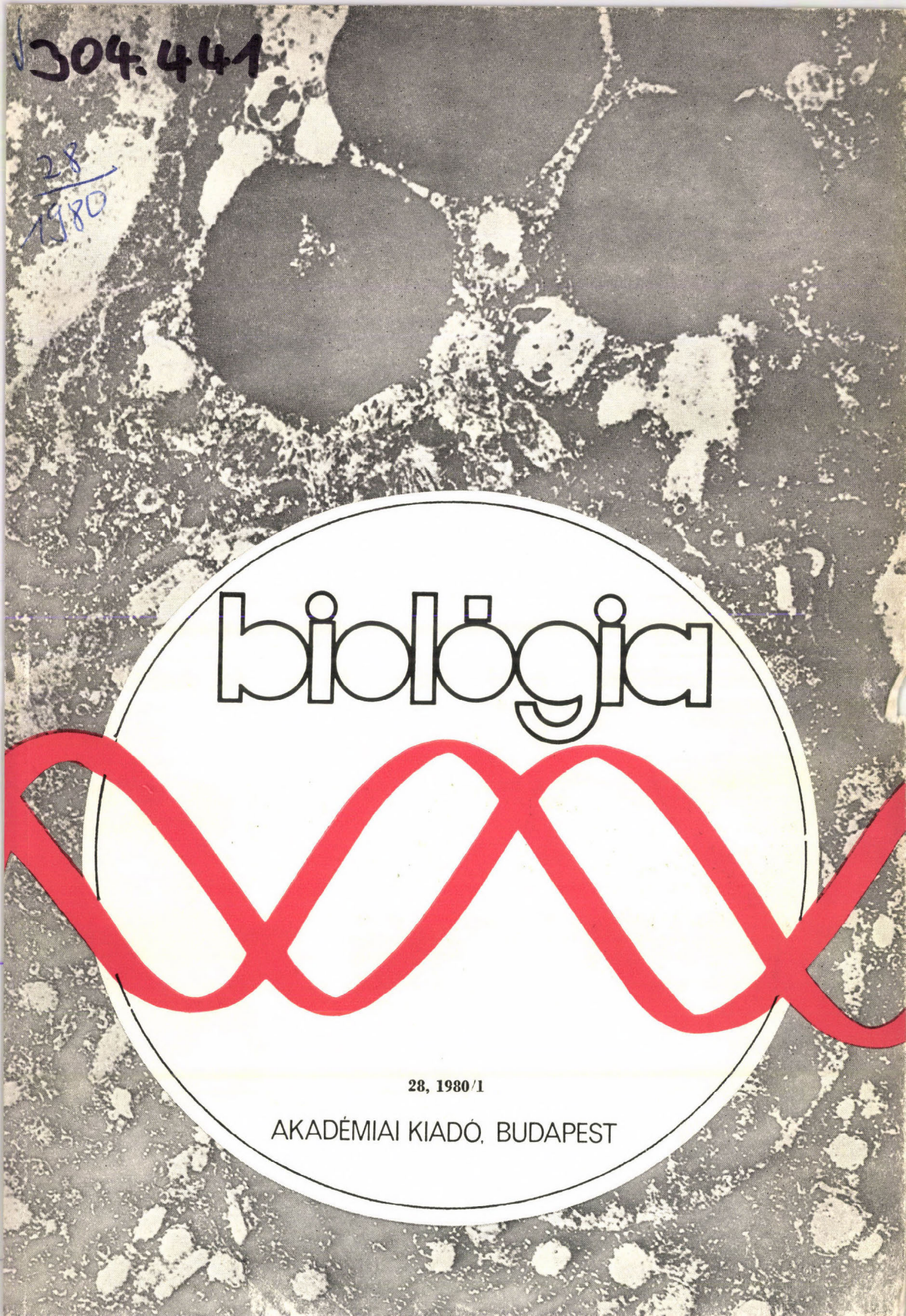
304.441
28
1980



biológia

28, 1980/1

AKADÉMIAI KIADÓ, BUDAPEST

SZERZŐINK SZÍVES FIGYELMÉBE

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

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

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

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

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

A dolgozatok fejléce tartalmazza a címet, a szerző(k) teljes nevét, az intézet és a város megnevezését, valamint a kulcsszavakat. A lapban megjelenő dolgozatokat a legfontosabb külföldi *referáló folyóiratok* angol nyelvű összefoglalójuk, illetve címük alapján *ismertetik*. Ezért célszerű a külön angol fordítás céljára készült összefoglalók szövegének informatív, szabatos megfogalmazása. A dolgozat végén jelöljék meg a *szerző nevét* és munkahelyének pontos *címét* (irányítószámmal). A kéziratok elkészítéséhez a szerkesztőség — előzetes kérésre — *Útmutatót* bocsát a szerzők rendelkezésére. Folyóiratunk egységes technikai kivitelezése érdekében *kizárólag az Útmutató figyelembevételével készült munkákat fogadhatunk el.*

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

Terjeszti a Magyar Posta

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

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

Előfizetési díj egy évre: 52 Ft

1 szám ára: 26 Ft

Index szám: 26 073

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

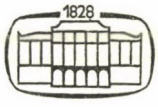
BIOLÓGIA

ELMÉLETI ÉS KÍSÉRLETI BIOLÓGIAI FOLYÓIRAT

Főszerkesztő:
CSABA GYÖRGY

Szerkesztő bizottság:

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



AKADÉMIAI KIADÓ, BUDAPEST

MAGYAR
TUDOMÁNYOS AKADÉMIA
KÖNYVTÁRA

Biológia, 28, 1980. 3—52

A SEJTSZAPORODÁS MOLEKULÁRIS SZABÁLYOZÁSA

BALÁZS ANDRÁS

MTA Kísérleti Orvostudományi Kutató Intézet, Budapest
Beérkezett 1980. március 14-én

Kulcsszavak: sejt-proliferáció, növekedési faktorok, chalonok, endopeptidek, karcinogenezis, daganat-terápia

Bevezetés

Előző monográfiánkban [12] a sejtproliferáció *endogén inhibitoraira* vonatkozó adatokat összegeztük. Most áttekintjük az újabb pozitív és negatív regulátorokat (*protorokat*) egyaránt részletező irodalmi adatokat, a protorok mechanizmusát a karcinogenezisben, a daganatok kemoterápiájában és lehetséges gyógyszeripari alkalmazásukat.

Az orvosbiológia fejlődésében elsőként a differenciált sejtek fajlagos, heteroszintetikus (HS) funkcióinak (mozgás, ingerlékenység, táplálkozás, anyagcsere, kiválasztás stb.) regulációját tárták fel kimerítő alapossággal. Az önreprodukciót, autoszintézist (AS) szabályozó molekuláris faktorok rendszeres kutatása csak az utóbbi másfél évtizedben indult meg [40, 55, 103]. A tárgykörben azóta megjelent gyűjteményes munkák [2, 16, 53, 80, 98, 120, 133, 134, 152, 157, 166, 171, 186] mozaikszerű válogatások a baktériumoktól az emlősökig végzett *részkutatásokból*. Az összefüggő monográfiák pedig egy-egy speciális témát fognak össze és integrálnak: az antimitotikus vegyületeket [62, 109], endogén inhibitorokat [12], a hemopoietikus kolóniákat [145], limfocita stimulációt [131], magtranszplantációt [89], sejtfúziót [90], az egysejtűek [163] vagy emlős sejtek [18] szaporodását. A részekre tagoltság fő oka a proliferáció-szabályozás interdiszciplináris természete. Az összességében nehezen áttekinthető adathalmaz sporadikusan oszlik meg az endokrinológia, neurobiológia, embriológia, szövettenyésztés, biokémia, farmakológia, sejtbiológia, radiológia, hematológia, genetika, immunbiológia, onkológia és peptidkémia anyagába ágyazva.

A sejtszaporodás interdiszciplináris kutatása

A proliferáció-szabályozás jellegzetes témakörei az orvosbiológia egy-egy részterületéről sarjadztak ki.

Az *endokrinológiában* már régóta kutatások tárgya, hogy a HS-működéseket szabályozó hormonok, pl. inzulin, kortizol a DNS szintézist és a sejtosztódást is módosítják [58, 115, 165]. A mitogén vagy mitodepresszív peptid- és szteroid-hormonok receptorait, intracelluláris mediációját és hatásmechanizmusát alaposan elemezték [2, 49, 52, 59, 94, 127, 144], így jelentősen pontosítják az AS szabályozására vonatkozó ismereteinket [79]. Másrészt az ún. növekedési faktorok (GF) egy részét, pl. fibroblaszt (FGF) vagy ovariális (OGF) proliferációt serkentő molekulákat is endokrin szervekből, hormontisztítás „melléktermékeként" állították elő [84, 86].

Neurobiológiai vizsgálatokban izolálták az ideg- és gliaszövet növekedéséhez szükséges NGF-et, és mutatták ki a polarizáció-depolarizáció sejtszaporodást moduláló hatását [34, 69, 147, 182]. Az *embriológia* az egyedfejlődés induktoraira és gátlófaktoraira hívta fel a figyelmet; templát-antitemplát elméletéből alakult ki a postembrionális növekedést is értelmező chalon-teória [40, 98, 173, 197].

A *szövettenyésztés* lényege a sejtek vitalitásának és szaporodóképességének *in vitro* fenntartása, amelyet hosszú időn át csak szérummal történő komplementálással tudtak elérni. A szérumból számos proliferációt moduláló faktort mutattak ki: fetuint, lipoproteineket, MSA-t (= multiplication stimulating activity), α-fetoproteint, szomatomedineket stb. [13, 86, 95, 159, 170]. A normál monolayer-ben logaritmikusan növekvő sejtek a telítési sűrűségnél stacioner-fázisba kerülnek; az ún. kontakt (pontosabban: sűrűségdependens) inhibició tanulmányozása értékes eredményekhez vezetett; többek közt a sejtek nyugalmi (G_0) állapotának jobb megértéséhez [1, 6, 8, 41, 56, 65, 96, 126, 187]. Ez már átvezet a *sejtbiológia* területére, amely a heterokarionok [90], magtranszplantációk [21, 89, 132], stimulált DNS szintézis [107, 131, 143, 154, 195], a sejtciklus kinetikájának elemzésével [120, 159, 194] gazdagította vonatkozó ismereteinket. Szorosan kapcsolódnak hozzá a *hematológiai* és *radiológiai* vizsgálatok, elsősorban az őssejtek [105, 119, 135, 198] és az elkötelezett hemopoietikus vonalak [11, 15, 42, 92, 110, 118, 129, 145, 418, 160] szaporodását irányító faktorok: poietinek, GF-ek, chalonok kimutatásával.

Az *immunbiológia* a limfociták szaporodását is szabályozó immunszupresszorok és stimulátorok kutatásával, továbbá az interferonok citosztatikus hatásának bizonyításával [73, 81, 108, 125, 131, 172] hozott új ismereteket.

A HS-funkciók kódolás ára kidolgozott *genetikai* alapfogalmak adaptálhatók az AS génekre is [lásd: 12]. A sejtproliferáció modulációi visszavezethetők a replikon expresszivitásának változásaira, amelyeket represszorok vagy pozitív szabályozó molekulák hoznak létre a regulátor fehérjék foszforilációja, metilezése és acetilációja révén [77, 89, 101, 111, 181, 193]. A *biokémia* a regulátor molekuláknak a homogenitásig történő tisztításában és szubcelluláris hatásmechanizmusok tisztázásában ért el kiemelkedő eredményeket. Különös jelentőségűvé vált az *endopeptidek* kémiája [20, 26, 35, 44, 82, 151, 162, 190].

Végül az *onkológiáról* teszünk említést. Amióta a daganatbiológiai vizsgálatok valószínűsítették, hogy az onkogenezis a sejtdifferenciálódás és proliferáció genetikai szabályozási zavara [12, 43, 46, 102, 175], számos kísérleti adat igazolta a sejtszaporodás regulátorainak túlsúlyát vagy hiányát a karcinogenezisben [25, 50, 51, 153, 184]. Másfelől az endogén inhibitorok *in vitro* és *in vivo* felhasználása a kemoterápia elvileg új, eredményes irányzatának kibontakozását igéri [24, 113, 124, 146, 174].

A replikációt és osztódást befolyásoló tényezők

A sejtosztódás helyett pontosabb a *sejtszaporodás* szabályozásáról beszélnünk. A mitózis (M) csak végső fázisa annak a *pleiotipikus reakciónak* [93], amely a nyugalmi (G_0, Q) állapotból történő kilépéssel kezdődik, magában foglalja a preszintetikus fázis, a replikáció és a G_2 szakasz metabolizmusát, és azok szabályozását. Csupán a leegyszerűsítések elkerülése és a komplexitás

érzékeltetése céljából soroljuk fel a proliferációt befolyásoló külső és belső tényezőket. Ilyenek a hőmérséklet (pl. hő-, ill. hidegsokkal végzett szinkronizálás [80, 163], a fény, az O_2, CO_2 és táplálékellátottság (pl. kvanti- vagy kvalitatív aminosav-elvonás [96, 159]), a pH, az ionmiliő [32, 65], a sejtek alakja és rögzülési igénye („anchorage dependence" [71]), a mikrokörnyezet és populáció-sűrűség [133].

Utóbbiakkal kapcsolatban külön említést érdemel a szövetkultúrákban észlelt, a közelmúltig *kontakt inhibiciónak* nevezett szabályzási típus [1, 8, 53, 199]. Az *in vitro* kiültetett diploid sejtek szaporodása *lag* és *log* fázisukat követően lelassul és pl. a 3T3 fibroblasztok 2×10^4/ml sejtsűrűségnél stacioner fázisba jutnak. A jelenséget a sejthártya aktiválódása, az elektromos transzmembrán potenciál (E_m) emelkedése, Na^+ kiáramlás, a fehérje- RNS- és DNS-szintézis csökkenése, a poliriboszómák számának esése stb. kíséri [56, 126, 154, 182]. Kimutatták, hogy a konfluencia kialakulásakor nem jön létre felületi kontaktus; kínai hörcsög sejtek közt pl. 30 nm szélességű rés mutatható ki elektronmikroszkóposan [56]. A stacioner fázist a tápközeg nutrienseinek fogyása és toxikus anyagcseretermékek felhalmozódása kíséri. Mégis az újabb vizsgálatok szerint a *primer* szabályozásban molekuláris faktorok: stimulátorok mennyiségi csökkenése és specifikus inhibitorok koncentrációnövekedése jutnak elsődleges szerephez [24, 29, 107, 113, 170]. Ugyanez érvényes az *in vitro* és *in vivo* sejtszaporodás egyéb, fentemlített eseteire is.

A proliferáció molekuláris regulátorai: protorok

A specifikus HS-sejtműködések funkcionális molekulái is módosíthatják a proliferációt. Ilyenek pl. a heparin, poliaminok, ciklikus nukleotidák, peptidek és szteroid hormonok, α-globulinok, proteázok, prosztaglandinok. Ezek azonban a sejtszaporodást csak mellékfunkcióként, kismértékben *modulálják*, vagy csupán farmakológiás dózisokban hatásosak (pl. az inzulin 10—20 μg/ml koncentrációban [86]).

Nagyobb jelentőségűek azok — az utóbbi két évtizedben megismert — molekulák, amelyeknek primer funkciója az AS-működések finom beszabályozása, és pM-os mennyiségben is hatásosak. Szintézisüket a genom AS-regulátor génjei kódolják. Legkiterjedtebben vizsgált csoportjuk a *GF-ok*, ezeket a stimulátorokat azonban jelenleg az endokrinológiában és immunológiában körülhatároltan kutatják, a más területeken megismert proliferációs inhibitorok figyelmen kívül hagyásával [47, 84, 86]. Utóbbiak egyik jellegzetes típusát, a *chalonokat* viszont másfél évtizeden át ugyancsak elkülönítve tanulmányozták a sejtbiológiában és onkológiában [39, 98], az időközben megismert növekedési faktorok (EGF, FGF, OGF, TP, ubiquitin stb.) mellőzésével. Másik izolált vizsgálati terület a bioenergetikában a *retinek* és *prominok* kutatása [185, 192], vagy a radiológiában és hematológiában az *őssejt* probléma [105, 119, 135].

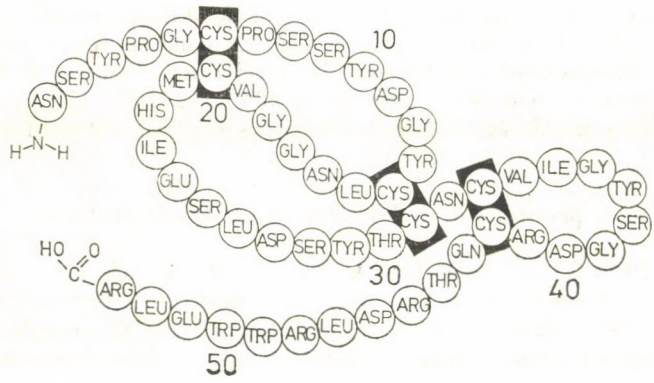
Heterogenitásuk ellenére a fenti regulátorok több alapvető közös sajátsággal rendelkeznek, így valamennyien a sejtproliferáció modulátorai, endogén eredetűek és a multifaktorális szabályozásban kölcsönhatásban (szinergizmus, antagonizmus, potencírozás, kompetíció) állnak egymással [10, 12]. Közös kutatásuk ésszerű, ami viszont egységes nomenklatúrát igényel. A közelmúltban javasoltuk (*Gegenbaur's Jl. Anot.*, 1980, közlés alatt), hogy a

sejtproliferáció különböző típusú pozitív és negatív regulátorait a *protor* gyűjtőfogalommal jelöljük, és egységesen osztályozzuk.

Kémiai struktúra: az endopeptidek kiemelt szerepe

A protorok kémiai természetét illetően ma még nehéz pontos összefüggéseket megállapítani, mert többségük csak részlegesen tisztított extraktumként ismert. Leírtak fehérjéket, glikoproteineket, lipoproteineket, RNS-fehérje komplexet, ketoaldehideket, poliaminokat, glikopeptideket stb. Túlnyomó többségükből azonban bebizonyosodott, hogy 500—14 000 molekulasúlyú *endopeptidek.*

Elsőként a növekedési faktorok tisztításában értek el átütő eredményeket. COHEN és mtsai [48, 55] izolálták az EGF-t és meghatározták szerkezetét *(1. ábra)*: 53 tagszámú 6045 molekulasúlyú, 3 S-S híddal kapcsolt peptid.



1. ábra. Az epidermális növekedési faktor (EGF) szerkezeti képlete
Fig. 1. Structure of the epidermal growth factor (EGF)

Rövidesen izolálták a TP, FGF, MSA, NSILA-S, OGF molekulát és más stimuláló faktorokat; valamennyien peptideknek bizonyultak. A purifikáció és szintézis előrehaladtával a molekulaméretek egyre zsugorodnak. A TP-I és TP-II pl. 49 tagszámú peptid, de szintézise során bebizonyosodott, hogy egy tridekapeptid fragmensét *(2. ábra)* önmagában is hasonló biológiai pa-

TP-I: NH_2-Gly-Gln-Phe-Leu-Glu-Asp-Pro-Ser-Val-Leu-Thr-Lys-Glu-Lys-Leu-

TP-II: Ser-Lys-Ser-Glu-Leu-Val-Ala-Asn-Asn-Val-Thr-Leu-Pro-Ala-**Gly-Glu-Gln-Arg-Lys-Asp-Val-Tyr-Val-Gln-Leu-Tyr-Leu-**Gln-His-Leu-Thr-Thr-Ala-Val-Lys-Arg-COOH

2. ábra. A thymopoietin-I (TP-I), TP-II, és a TP_{29-41} aktív fragmens
Fig. 2. Structure of thymopoietin-I (TP-I), TP-II and the active TP_{29-41} fragment

raméterek jellemzik [81]. De protor-hatású lehet pl. az ε-N-trimetil-lizin is, amely normál és tumorsejtek szaporodását serkenti [184].

Lassúbb a haladás az endogén inhibitorok vonatkozásában, ezért időről-időre létezésüket is kétségbe vonták (l. a tárgykörben megjelent monográfiánkat [12]). A szakirodalomban leírt mintegy 2—30 gátlófaktor az elmúlt évig csak mint részlegesen tisztított extraktum állt rendelkezésre. Legújabban laboratóriumunkban, az MTA Enzimológiai Intézetével együttműködve, sikerült egy kismolsúlyú myelospecifikus inhibitort a homogenitásig tisztítani és kémiailag jellemezni. A molekula egy 10 tagszámú ninhidrin-negatív, klór-tolidin pozitív savas oligopeptid [15].

Más sejttípusok, így a limfociták, eritrociták, emlőmirigy-sejtek, JB-1 aszcites sejtek és hepatociták specifikus inhibitorainak peptid-természetét is valószínűsítették [24, 83, 98, 141].

A protorok eddigi kémiai analízisének eredményei szerint tehát a normál és daganatos sejtszaporodás problémaköre az endopeptid kutatásba torkollik.

Szinergizmusok a sejtszaporodás regulációjában

A proliferáció szabályzásában direkt, *autogén* mechanizmusok — amikor egy strukturgén által kódolt fehérje modulálja a génexpresszivitást — nem érvényesülnek (pl. a hemoglobin nem inhibitora az erythropoiesisnek). Az indirekt reguláció sem egyfaktoros, hanem pozitív és negatív szabályozók eredője. Az ilyen kölcsönhatások számos típusát írták le.

Goldberg [79] yin-yang elmélete ellentétes mechanizmusok (pl. a cAMP-cGMP rendszer) dualizmusát tételezi fel. A templát-antitemplát teória [197] intracelluláris stimulátor és diffuzibilis gátlófaktor kölcsönhatására épül. A chalon-antichalon antagonizmust negatív feedback inhibitor és pozitív diffuzibilis ellenfaktor alkotja [98, 103]. A retint olyan elektronakceptor molekulának tartják, amely intracellulárisan bontóenzimjével, a prominnal áll dinamikus egyensúlyban [185]. Mindez azonban még csak bizonyításra váró elmélet-halmaz; a gyakorlatban egy sor olyan antagonizmust, vagy additív, potencirozó kölcsönhatást írtak le, amelynek természete még nem tisztázott.

Néhány példa: a protorok hatásosságát a gyakorlatban elsőként *in vitro* vizsgáljuk. Ezért sokatmondóak azok az adatok, amelyek a protorok aktivitásának *szérumfüggését* bizonyítják. Az FGF hatásosságát pl. fokozza a szérum [86, 107], más faktorokét, pl. az epidermális G_2 inhibitorét, fibroblaszt chalonét, Ehrlich ascites sejtek gátlófaktoráét csökkenti [67, 99, 124]. Magunk is tapasztaltuk, hogy egyik limfo-szelektív preparátumunk (T_4-1) gátlóaktivitását már 0,3—20 % fetális borjúsavó (FBS) dózisfüggően antagonizálja [13]. A szérumfaktor (SF) termostabilis, nem dializálható, nem azonos az inzulinnal, sem pedig a proliferációt önmagában is stimuláló egyéb komponenssel. A SF kompetitive és időfüggően akadályozza a gátlóhatás kialakulását. A fibroblaszt-chalon SF-a $1{,}2 \times 10^5$ molekulasúlyú, két 6×10^4 alapegységből összetett, 5,2—5,4 izoelektromos pontú, tripszin- és neuraminidázszenzitív, termostabilis szialoprotein, amely az inhibitorral oldatban nem kötődik [98].

Kemoterápiai szempontból jelentős a protorok *additív* kölcsönhatása. Kimutattuk pl. hogy a T_4-1 limfoid inhibitor és a hidrokortizon egymás

aktivitását potencírozzák. Hasonló szinergizmust bizonyítottak vincristin és szteroid hormonok közt; peptid hormonokkal viszont nem fokozható a citosztatikus effektus.

Jól ismert, és a kísérletek általánosításakor óvatosságra késztet egyes protorok *paradox* hatása, ami a regulátor dózisának, vagy target sejtjei típusának függvénye. A Gly-His-Lys összetételű tripeptid pl. stimulálja a hepatoma sejtek, limfociták vagy mycoplasma szaporodását, de gátolja a gliasejtekét [162]. A hidrokortizon citocid limfocitákra, fiziológiásan arretálja a fibroblasztokat és stimulálja a hepatocitákat [115]. A dózisfüggést dokumentálja, hogy a cAMP 10^{-8}—10^{-6} M-os töménységben stimulál vagy indifferens, magasabb koncentrációban gátolja a sejtszaporodást; a fül-epidermis mitotikus indexét pl. 10^{-5}—10^{-2} M cAMP lineárisan csökkenti.

A protorok szinergizmusainak mélyebb megértése a faktorok kémiai tisztításának, továbbá a stimulátorok és inhibitorok együttes vizsgálatának függvénye.

Elméletek a proliferáció módosulásainak értelmezésére

A sejtszaporodás mértéke számos biológiai folyamatban változik korrelatíve, vagy szelektív módon. Ilyenek az embrionális és postembrionális növekedés, öregedés, a regeneráció, vagy a besugárzásra adott reakciók. A diurnális ritmusban összefüggően ciklizál az egyes szövetek mitózisainak gyakorisága. Szelektív a szervnövekedés a fogak, uterus vagy emlőmirigy fejlődésében. Gyakran tapasztalható specifikus proliferáció egyes immunreakciók, egysejtűek-okozta fertőzések esetében és ma már erősen valószínűsített a daganatok klonális eredete is. E bonyolult szabályzásformák magyarázatára számos elméletet konstruáltak; ehelyütt csak néhány sejtbiológiai és molekuláris szintű elgondolást emelünk ki. Többségük csak részfolyamatokat értelmez és erősen hipotetikus; általános érvényű és sokoldalúan bizonyított koncepció csak a protorok összefüggő vizsgálata után várható.

Embrionális indukció és gátlás

Már a fejlődésmechanikai irányzat felhívta a figyelmet arra, hogy a morfogenezis programozott növekedését [80] molekuláris induktorok és gátlófaktorok szabályozzák. Az időközben felgyülemlett adatokból néhány példa.

Az ontogenezis legkoraibb periódusaiban is kimutatták a protor-funkciót. Xenopus és Rana békafajok petéiben pl. olyan ún. *citosztatikus faktort* demonstráltak, amely kétsejtes embrió egyik blasztomerjébe injektálva a sejtek osztódását metafázisukban függeszti fel. Az inhibitort megtermékenyítés után a felhalmozódott szabad Ca^{2+} inaktiválja. Triturus gastrula mezo- és entodermális szöveteinek differenciálódását a *vegetalizáló faktor* indukálja, amelyet egy glikoprotein inhibitor inaktivál [31]. A két antagonista a gastrula homogenizátumából fenolos kirázással elkülöníthető. Az anti-vegetalizáló faktor egy DN-áz és RN-áz rezisztens, pronázra erősen szenzitív glikoprotein.

A középső gastrula fázisig a sejtek rövid ciklusidővel (t_G), sűrűn és szinkron osztódnak, különösen az animális póluson. A szinkronitást DTP

tartja fenn; exogén DTP bevitelével késleltethető a differenciálódáshoz szükséges mRNS szintézise. A hormonális szabályozás (főként GH és tiroxin) aránylag kései időpontban kapcsolódik a morfogenezisbe és egyideig a receptor-hormon fejlődés különútú [59]. *Target-specifikus* inhibitorokat növekvő számban izoláltak az embriogenezis előrehaladtával. Ilyen pl. a bélhám 2×10^3 ms-ú, vízoldékony, G_2 fázisban ható és $1{,}2—1{,}5 \times 10^5$ ms-ú G_1 támadáspontú gátlófaktora. Utóbbit tartják filogenetikailag ősibbnek [38].

Embrionális induktor a hasnyálmirigy hámjának proliferációját serkentő *mezenchimális faktor*, egy membránhoz kötött glikopeptid [168]. Általános stimulátor az *α-fetoprotein*, amely felnőttben csak nyomokban található (0,02 μg/ml), az embrionális szérumfehérjék közt viszont domináns, mennyisége 15 hetes emberi magzatban 3000 μg/ml. A máj és szikzacskó szintetizálja [179].

A templát-antitemplát elmélet. Chalonok

Az embrionális növekedés és differenciálódás értelmezésére dolgozta ki Weiss és Kavanau [197] templát-antitemplát teóriáját. A *templátok* (T) intracelluláris, sejtspecifikus anyagok, amelyek katalitikus aktivitása stimulálja a „generatív" (G) sejttömeg növekedését. Antagonistái, az *antitemplátok* (AT) a differenciált (D) sejtek által termelt, ugyancsak specifikus, diffuzibilis molekulák, amelyek negatív feedback mechanizmussal blokkolják a T-okat. Az egyedfejlődésben fokozatos G → D konverzió megy végbe. A szervek csonkításakor a T/AT hányados értéke megnő, sejtinfúzió vagy implantáció esetén pedig csökken.

A T-AT koncepció továbbfejlesztése a *chalonelmélet*, amelyet egymástól függetlenül dolgozott ki és támasztott alá kísérletesen a hatvanas évek elején Ballough [39, 40] és Iversen [104]. A chalon negatív visszacsatolással szabályozó molekula, amelynek kritériumai, hogy a producens és target sejtek azonos típusúak, diffúzió vagy keringés útján terjednek, vízoldékonyak, faj-specifikusak, támadáspontjuk a sejtciklus G_1 vagy G_2 fázisa, a molekula rövid életidejű és hatása reverzibilis, nem toxikus. Bullough [40] terminológiája szerint a ciklus „dichofázis"-ában a chalon monofaktoriálisan megszabja, hogy a sejt jelenlétében a specifikus funkciók, vagy hiányában a további proliferáció („prosfázis", „antefázis" és mitózis) irányába halad.

A chalonelmélet megalkotóinak kétségtelen érdeme, hogy élénk kísérletes munkát indítottak el, amely nagyban hozzájárult a proliferáció molekuláris szabályozásának jobb megismeréséhez. Mintegy 20 sejttípus inhibitorát demonstrálták részlegesen tisztított extraktumok formájában. Anyagukról gyűjteményes kötet [99] ad áttekintést. A chalonként jelölt gátlófaktorokról azonban a leírások többségénél hiányzik paramétereik (monospecifitás, diffuzibilitás, reverzibilitás) igazolása. Ezért gyakori és jogos bírálat érte a „chalone beliver"-eket, és az elmélet a 70-es évek elején heves vitákat váltott ki. Egyoldalúsága az elképzelésnek, hogy monofaktoriális szemléletével elhanyagolta a stimulátorok és aspecifikus inhibitorok funkcióit, nem használta fel eléggé a modern biokémia vizsgálómódszereit és képtelen volt a statikus és végsejtek osztódásképtelenségének magyarázata [12]. Az utóbbi években több kísérlet történt ezek korrelációjára: antichalonok, mezenchimális faktor, ciklikus nukleotidák stb. antagonizmusának figyelembevételére [7, 99, 173].

A chalonok hatásmechanizmusára csupán néhány, csak apróbb részleteiben alátámasztott elképzelés látott napvilágot [7, 98, 173]. Ezek szerint priméren az adenilcikláz aktivitását fokozzák és csökkentik a Ca^{++} felvételét. A mediáció, a peptidhormonokhoz hasonlóan, a foszfodiészteráz-cAMP-nukleotidkináz rendszeren keresztül történne, amely gátolja a mitózishoz vezető mRNS szintézisét. Sejtkinetikailag a ciklus szenzitív fázisát nyújtja meg [174], populációs szempontból az amplifikációt mérsékli [22]. A mechanizmus további bizonyítást igényel.

Pozitív szabályozás növekedési faktorokkal

A chalonokkal ellentétes szélsőség jelentkezik a GF-ok kutatásában. A szakterület kiemelkedő egyénisége, Gospodarowicz pl. összefoglaló munkájában [86] részletesen tárgyalja a keringési-, szöveti- és celluláris GF-eket, de csupán egy rövid mondatban említi a chalonokat és más inhibitorokat, olyan „zavaró" tényezőként, amelyek megnehezítik a GF-ek purifikációját. Definíciója szerint a GF-ek „olyan serkentő anyagok, melyek nem tápanyagok". (A nutriensek pedig „olyan vegyületek, amelyeket a sejtek metabolikus szubsztrátként vagy kofaktorként hasznosítanak".) Biológiai funkciójukként (a) az egyedfejlődés szabályzását, (b) a gyors turnoverű sejtpopulációk homeosztázisának fenntartását és (c) a sebgyógyulás és regeneráció előmozdítását jelöli meg. Később látni fogjuk, hogy fenti mechanizmusokban egy sor szelektív inhibitor is közreműködik. A vörösvérsejt képzést pl. az erythropoietin stimulálja, de az EP szintézisét a vesében egy vízoldékony (EPI_s) és egy lipid-oldékony (EPI_l) faktor gátolja. Negatív feedback inhibitort mutattak ki vörösvértestekből (erythroid chalon), vizeletből és szérumból (EIF) [110, 129]. Kompartmentálisan magasabb szinten a vörösvértest képzést szabályozzák a hemopoietikus őssejt (CFU-S) újabban kimutatott szelektív stimulátora és inhibitora [119, 135, 198] is. Újabban kompetens áttekintő művekben [18, 95, 159, 163] — fentieknek megfelelően — a proliferáció-szabályozás kettős, vagy multifaktoriális [12] jellegét hangsúlyozzák.

A GF-ok purifikációjában jelentős eredményeket értek el [5, 84, 88, 92] és főként az ismert szerkezetű EGF [48, 55], TP és analógjai [26, 36, 81, 82], továbbá az NGF [34] hatásmechanizmusának kutatásában jutottak értékes adatokhoz. Ezek zöme a receptor- és mediátor-problémakörre vonatkozik [4, 29, 36, 64, 85, 94, 107], amelyek éppen a proliferációs inhibitoroknál kevéssé ismeretesek. Kimutatták, hogy több GF az adenilcikláz-cAMP rendszer, illetve a poliamin szintézis kulcsenzimjének, az ornitindekarboxiláz aktivitásának fokozása révén fejti ki aktivitását. A növekedési faktorok zömét sokféle sejt produkálhatja, így NGF-et submaxilláris mirigyből, gliasejtekből, neuronból, 3T3 és SV3T3 fibroblasztokból izoláltak [34, 147], az ubiquitin általános előfordulású [81]. Célsejtjeik heterogének, a szomatomedin pl. HeLa kultúrák, gliasejtek, fibroblasztok, hepatociták, ováriumtumorsejtek proliferációját egyaránt stimulálja. Szelektív hatás ritkább, ilyen kivétel pl. az EP [86]. Növekedésserkentő aktivitásukat olyan anyagok is potencirozzák, mint a glikokortikoidok, amelyek önmagukban kevéssé mitogének [97]. Bizonyos esetekben nehezen választható szét a GF-ek proliferációt serkentő és differenciálódást indukáló hatása, így a CSF, EP vagy TP okozta amplifikáció, vagy az ún. kvantális mitózisok esetében [119, 145, 175].

A sejtosztódás és differenciáció korrelatív szabályozása

A két folyamat összefüggéseinek megértése a molekuláris biológia egyik kulcskérdése, többek közt ennek függvénye az onkogenezis és daganatterápia fő problémáinak megoldása is. Általában *inverz* mechanizmusok: a differenciálódással párhuzamosan csökken a proliferációs kapacitás. Tanulmányozásukra a megújuló populációk, pl. a hemopoietikus sejtek a legalkalmasabb modellek. A fiatal sejtek érésekor rendszerint csökken az AS-funkció: a magplazma arány, a MI, a populációk növekedési frakciója, és megnyúlik a generációs idő (t_G). Párhuzamosan emelkedik a specifikus HS-funkciókkal kapcsolatos organellumok száma, enzimek aktivitása és funkcionális vegyületek (pl. hemoglobin, keratin stb.) szintézise. A teljesen differenciált sejtek elveszítették osztódási kapacitásukat és maximális funkciót fejtenek ki.

Milyen molekuláris szabályozók irányítják e mechanizmust? Normál sejtek differenciálódását természetes *induktorok* „triggerelik": EP a vörösvérsejtek, TP a thymocytákét, valószínűleg a CSF a granuloid sejtekét, NGF a neuronokét. Transzformált sejtek gyakran nem képesek spontán differenciálódásra, de endo- vagy exogén faktorokkal indukálhatók [78, 80, 175]. Jó modellek ennek demonstrálására pl. az erythroid myeloid leukémiák, továbbá a neuroblasztoma kultúrák. Általános induktor a krioprotektív dimetilszulfoxid (DMSO) [102, 175], a sejtmembrán fluiditását csökkentő aromás urea-származékok [69], egyes DNS-szintézis gátlók, pl. hidroxiurea, adriamicin, a prosztaglandin-E, 5-bromo-2'-deoxiuridin, papaverin [102], egyes szteorid hormonok és lektinek [175].

A proliferáció—differenciálódás összefüggését az induktor-koncepcióhoz hasonlóan *monofaktorálisan* értelmezi a chalon elmélet is [39]: ha a sejtre elegendő mennyiségű chalon hat a dichofázisban, az beszünteti ciklizálását és differenciálódni kezd. Amikor máj gátló extraktumával kezeltek H-35 hepatoma sejtvonalat, azok a G_1-fázisban arretálódtak és rajtuk a differenciálódás strukturális jegyei, pl. trabeculum-képzés mutatkoztak [61].

Az egysíkú induktor, vagy negatív feedback inhibitor magyarázatokkal szemben, a tényekkel jobban egyeztethető a *multifaktoriális* elmélet. Eszerint differenciálódás és proliferáció korrelatív, de független folyamatok [12], amelyeket külön AS, ill. HS regulátor gének vezérelnek, direkt induktorok és inhibitorok, intra- és extracelluláris protorok, negatív és pozitív visszacsatolási mechanizmusok szabályoznak. A differenciált végsejtben az AS regulátor géneket intracelluláris represszor (DCI) blokkolja; ez biztosítja, hogy teljes kapacitásukat a specifikus HS működésekre fordíthassák. 1972 óta, amikor hipotézisünket először közöltük [14], számos megerősítő kísérletes adat gyűlt össze.

Így pl. a differenciálódás (d) és proliferáció (p) külön, önálló szabályzását támasztja alá, hogy idős gliasejtek kondicionált médiumából olyan d^+ faktort izoláltak, amely neuroblasztoma sejtek nyúlványképzését indukálja, a *p*-ráta megváltoztatása nélkül [147]. Normál mieloblasztok szaporodása fokozható a *d* változatlansága mellett [128]. A *p*-t stimuláló tumorpromoterek, pl. a TPA (12-o-tetradekanoil-forbol-13-acetát) a *d*-t gátolhatják (pl. neuroblasztoma neurit-képzését, katekolamin és specifikus 14-3-2 fehérjeprodukcióját [102]), de indukálhatják is pl. a HL-60 myeloid leukémia adherenssé válását, fagocitózisának, lizozim-aktivitásának, IgG receptorainak növekedését, vagyis makrofág-irányba történő d-át. Melanomából olyan gátló

extraktumot készítettek, amelyben elkülöníthető a *d*, ill. *p*-t szabályozó faktor; a pigment-indukció (d^+) termostabilis, a *p* gátló hőérzékeny (50 °C, 15'). Emlőmirigy kultúrákban inzulin váltja ki az ún. *kvantális mitózist*, d^+ faktorként a prolaktint azonosították [80, 89]. Differenciált struktúrák és funkcionális molekulák nem feltétlen gátjai a *p*-nak, pl. fiatal myocardiális sejtek, amelyekben már aktomiozin és miofibrillumok képződtek, proliferálnak. A Langerhans-szigetek tumorsejtjei is intenzíven szaporodnak glukagon, inzulin, szerotonin és prosztaglandin képzése közben (az adatok összefoglalását l.: [12]).

A negatív feedback mechanizmusokon kívül (chalonok) pozitív visszacsatolást is bizonyítottak mieloid leukémiás sejtek glukokortikoidokkal végzett *in vitro* kezelésekor [97]. A szteroid hatására a sejtek saját *d*-kat indukáló 2—4 × 10^4 molekulasúlyú, glikoprotein természetű DSF-t szecernálnak.

A „távolsági", diffuzibilis protorok mellett intracelluláris szabályozók [12, 118, 156, 185, 197] is funkcionálnak. Közülük külön említést érdemel a két intracelluláris antagonista, a retin és a promin.

Bioenergetika: retin és promin.

Szent-Györgyi Albert [185] bioenergetikai oldalról közelítette meg a sejtszaporodás regulációját. Noha elképzeléseinek kísérletes megerősítése a mai napig hézagos, elmélete szemlélteti újszerűsége miatt, változatlanul aktuális.

Thymus-dependens kóros elváltozások, a myasthenia és myotonia megfigyeléséből kiindulva, a sejtben a struktúrfehérjék, mint félvezetők töltésváltozásait tekintette a nyugvó—proliferáló (Q—P) állapot meghatározóinak. A Q-státus fenntartói az elektronakceptor *retinek*, amelyeket kezdetben ketoaldehideknek véltek. A metilglioxál-származékokat inaktív hidroxilsavakká alakítja. Az átvitelt -SH csoportok és O_2 katalizálják. A karbonil csoportok nagy része fehérjéhez kötött, kisebb hányada szabadon van a sejtben. Amikor a szabad molekulák kilépnek a rendszerből, bekövetkezik a szolid struktúrák megbomlása („dismantle"), a sejt ciklusba lép és osztódik.

Az elmélet lényeges része, hogy *intracelluláris* szabályozó mechanizmust tételez fel. A két protor szubcellulárisan izolált, vagy a promin aktivátorja nélkül, proenzim formájában van jelen; működéséhez entrópia-növekedés szükséges. A Q sejtekre negatív entrópia és fokozott szintézis jellemző.

A retin és promin target-aspecifikus, toxikus, de fiziológiás endogén molekulák. Thymusból, izomból, aortából és vizeletből egyaránt izolálták. Kémiai természetét illetően megoszlanak a vélemények, amit az *Acta Agronomica* által 1974-ben közölt vitaanyag jól tükröz. Tyihák és Patthy [192, 193], továbbá Szende és mtsai [184] a retint metilarginin-származékként, a promint ε-N-metilezett lizin típusú vegyületként azonosították. A főbb kísérletes adatok: reineckat-képzés erősen savas közegben; papírkromatográfiás R_f értékek a gátlófaktoroknál 0,15—0,24, a stimulátorok viszont a start közelében helyezkednek el; fokozott alkáli-érzékenység; alacsony molsúly, hasonló struktúra és labilitás. Más szerzők a retint 3-deoxi-D-glukozulóznak, N-tartalmú diketénnek, dehidro-aszkorbinsavnak, vagy akroleinnek tartják [192].

Elméleti szempontból a retin-promin koncepció szerencsésen egészíti ki a chalon-elméletet, mert az egyoldalú negatív visszacsatolási mechanizmus mellett a kettős intracelluláris szabályozásra irányítja a figyelmet.

A sejtciklus és nyugalmi fázisai

Bármelyik elméletet vesszük alapul, a szabályozás lényege minden esetben az, hogy a protor a ciklusban haladó (P) vagy nyugvó (Q) sejt AS-metabolizmusát módosítja. Ebből a szempontból összegezzük röviden a G_1, S, G_2 és M fázisok anyagcserefolyamatait, a közéjük ékelődő nyugalmi (resting: R_1, R_2, R_3) periódusokat, az utóbbiakból való kijutás módozatait, tekintettel a különböző sejt-populációk eltéréseire.

Egyedfejlődés és sejt-proliferáció

A morfogenezis tárgyalásakor érzékeltettük, hogy a megtermékenyített petesejttől a késői embrióig az indukciós- és gátlófaktorok széles skálája irányítja a totipotencia beszűkülését. A szöveti- és organogenezis befejeztével lényegében kialakulnak a felnőtt szervezetre jellemző protorok is. A postnatális életben azonban a különböző funkciójú sejtek nagy eltéréseket mutatnak differenciáltságuk, szaporodóképességük és élettartamuk szerint. LEBLOND [122] osztályozását alapul véve (1) a *megújuló* populációk rövid féléletidejűek és meghatározott számú érési kompartmentben élénken proliferálnak pl. a hám- vagy csontvelősejtek, (2) az *expandáló* populációk homeosztázisban a növekedés befejeztével csak ritkán, a sejtpusztulás ellensúlyozásaként osztódnak, míg (3) a *statikus* populációkban (neuronok, harántcsíkolt izmok) postnatálisan sejtes megújulás nincs, hosszú élettartamukat a molekuláris megújulás biztosítja. Az eutel állatok, pl. kerekesférgek egész szervezete statikus sejtekből épül fel. A megújuló populációk végsejtjei („suicide cells") ugyancsak osztódásképtelenek. A megújuló prekuzor sejtek az ontogenezis korai szakaszában kevéssé reaktívek protorokra, így rágcsálók hámsejtje a születés utáni első napokban az epidermális chalonra [23]. LAJTHA [119] külön kategóriaként emeli ki az *őssejteket*, amelyek önfenntartó populációt alkotnak.

Az egyes populációkban más-más mitózis típusok dominálnak. Az őssejteket nyugalmi állapotban, amikor csupán 10%-uk van S-fázisban, a homoplasztikus α-2-α osztódások jellemzik; a mitotikus és leánysejtek egyenértékűek. Fiziológiás igény felléptekor (amikor már az őssejtek 40 %-a ciklizál S-fázisban) továbbá az ún. tranzit-populációban a kettőződés alternatív típusai ismeretesek. Az α-2-N asszimetrikus osztódásnál csak az egyik utódsejt eltérő értékű, N-2-N mitózisnál viszont mindkét leánysejt differenciáltabb karakterű, a soronkövetkező érési fokozat tagja. A ciklus meghatározott, ún. döntési (decision) szakában (dichofázis [39]) a sejtek „választhatnak" a további proliferáció módjai, illetve a morfofiziológiai differenciálódás között. Ez a kritikus időpont autoradiográfiás mérések alapján egér bélhámban pl. a mitózist követő 4., patkánynál a 7,5 óra. A „döntések" molekuláris szabályozása jelenleg kevéssé ismert, de — különösen a multikompartmentális rendszereknél — valószínűsíthetően többfaktoros [12].

Nyugvó (Q) és ciklizáló (P) sejtek

A Q $\rightleftarrows$ P átmenet a proliferáció-szabályozás kulcskérdése. A két állapot elkülönítése, különösen a folyamatosan osztódó stem és tranzit populációknál nem könnyű, csak az utóbbi években dolgoztak ki megfelelő morfológiai és citokémiai módszereket. A Q sejtek magjai rendszerint kisebb térfogatúak, kromatinjuk templát aktivitása alacsonyabb, több heterokromatint tartalmaznak, belső viszkozitásuk, interkaláló festékmegkötő-képességük (pl. akridin-orange, etidium-bromid) kisebb, hőstabilitásuk magasabb a ciklusban levőknél. Az egyes sejtek helyzete az interfázisban jól meghatározható pl. quinakrin-dihidrokloriddal végzett fluoreszcens festéssel kromocentrumaik alapján [149]. A populáció-dinamika pedig flow-mikrofluorimetriás elemzéssel követhető, így tisztázták pl. a 3T3 sejtek ciklus részidőit [199]: $t_{G_1} = 5{,}4$, $t_S = 8{,}5$, $t_{G_2} = 3{,}0$, $t_M = 0{,}7$ óra; a tápközeg szérumkoncentrációjának csökkentésekor a fibroblasztok az osztódást követő $3{,}2^h$-ban kerülnek Q-blokkba.

A Q → P átmenet lényege egy triggerként működő jel behatása, amely pozitív vagy negatív pleiotipikus reakciót [93] vált ki. E folyamat tisztázása különösen azóta gyorsult fel, hogy az utóbbi években több GF-t izoláltak, szintetizáltak és izotóposan jelöltek. *A P → Q reverzió* mechanizmusa kevésbé ismert, mert tisztított protorok még nem állnak rendelkezésre, így csak nutriens-megvonási kísérletekből következtethetünk a blokk természetére.

A Q → P átmenet főbb modelljei a következők: Részleges irtást, vagy besugárzást követően főként a máj, bőr, vese és csontvelő kompenzatórikus növekedését tanulmányozták nagy részletességgel. A folyamatban gátló és stimuláló protorok közreműködését egyaránt kimutatták [55, 67, 135, 140, 176, 198]. Az exstirpáció kémiai szignálokkal is helyettesíthető, így pl. az ún. TAGH-mixtura (trijódtironin, aminosavak, glukagon és heparin) injektálása intakt állatokba ugyanolyan tüneteket vált ki, mint a hepatektomia: az rRNS és DNS szintézis fokozódását, gliceridek felhalmozódását és a zsírsavak összetételének megváltozását. A nyálmirigy proliferációja izoproterenollal fokozható [17], az emlőmirigy explantátumé inzulinnal, bőr-szervkultúráké EGF-el és más növekedési faktorokkal [55], embrionális neuronok vagy felnőtt Lieberkühn mirigysejteké elektromos stimulációval [182]. Gazdag kísérleti anyag halmozódott fel a kontakt inhibíció feloldhatóságáról dializált szérummal, proteolitikus enzimekkel, GF-ekkel, a Ca^{2+} ionkoncentráció növelésével, prosztaglandinokkal, onkogén vírusokkal [1, 8, 41, 56, 65, 95, 126, 154]. Hasonló *in vivo* modell az ascites sejtek sűrűségi gátlásának feloldása, vagy intakt gazdaállatba történt átültetését követő rekurrens növekedésének vizsgálata [24, 124]. Végül, de nem utolsósorban kötetekre rúgó irodalom gyűlt össze a limfociták immunstimulációjáról (összefoglalását l.: [131]). Fenti modelleket a stem és tranzit populációkból álló sejtek alkotják. A kis limfociták azonban, bár immunfunkciójukat illetően nem, morfológiailag azonban feltétlenül differenciált, hemoesztázisban osztódásra képtelen *végsejteknek* tekinthetők [10, 12]. Ezért velük, a statikus populációk reaktíválhatóságával együtt, a fejezet végén külön foglalkozunk.

A P → Q átmenet modelljeiként (a) embrionális rendszereket használnak, amelyekben a totipotencia beszűkülése, a növekedési frakció és osztódási kapacitás csökkenése elemezhető, továbbá folyamatosan proliferáló felnőtt sejteket, amelyek (b) nutriensek megvonásával, vagy (c) endogén inhibitorok bevitelével kényszeríthetők Q-fázisba.

Röviden összefoglaljuk, hogy a nyugvó sejtek stimulációja milyen szabályzási mechanizmusokat indít el. A korábbi években elsősorban *transzkripciós*, a génexpresszivitást közvetlenül módosító hatásokat tételeztek fel. Kimutatták ugyanis, hogy a stimulációt követő 10—60 percen belül módosulnak a DNS-fehérje kötések, a kromoszomális regulátor fehérjék foszforilálódnak, acetilálódnak vagy metileződnek, megnő a kromatin templát aktivitása, és rövid idő alatt *de novo* mRNS és fehérje szintézis megy végbe [131]. Újabban egyre inkább *transzlációs* mechanizmusok kerülnek előtérbe és több folyamat (pathway) együttes működésére derül fény [106, 187]. Pontos összefüggéseik feltárása és időrendbe állításuk a következő években várható. Néhány, a stimulációt követő metabolikus változás: Szelektíven módosul a sejthártya *permeabilitása* és vele a *transzport*-folyamatok. Felgyorsul a Na^+, K^+, Ca^{2+}, glukóz, egyes aminosavak, uridin, foszfátok és putreszcin beáramlása. Az adenozin és néhány aminosav transzportja viszont változatlan marad [159]. A megnövekedett Ca^{2+} szint több irányban hat [32, 65]. Fokozza a membránhoz kötött Mg^{2+} felszabadulását, ezáltal növelve a szabad inracelluláris Mg^{2+} koncentrációját. Másfelől egy kismolsúlyú fehérjét, a CDR-t (Ca-dependens regulátor) mobilizál, amely néhány enzimet, így az adenilcikláz és foszfokinázokat aktiválja [187]. Fokozódik meghatározott fehérjék foszforilációja, megváltozik a cAMP/cGMP hányados értéke, ezen belül növekszik a Ca^{2+}-dependens cGMP koncentrációja [32]. Mobilizálódnak az *iniciátor fehérjék*, amelyeknek jelenleg mintegy tíz típusát ismerjük eukariótákban. Közülük az eIF-2 az intracelluláris metionin szintet emeli és kiváltja a Met-$tRNS_f$ kapcsolódását a 40S riboszomális alegységhez. Egy másik iniciátor fehérje, az eIF-4B az mRNS—riboszóma kötődését szabályozza. A mRNS forrása kettős: a citoplazmában preformáltan jelenlevő és a magból a plazmába átjutó messenger. A szabályozás fontos momentuma, hogy az iniciálás lényegében egy *blokk megszüntetése*. Kimutatták ugyanis egy olyan transzlációs inhibitor létezését, a mely az eIF-2 $3{,}5 \times 10^4$ molsúlyú alegységét foszforilálja. Az inhibitor működését a magas cAMP szint tartja fenn. Amikor mitogén hatásnál a cAMP szint csökken (ehhez 3 perc is elegendő), az eIF-2 felszabadul a blokk alól és elkezdődik az AS folyamatok iniciációja. Néhány érdekes megfigyelés támasztja alá, hogy a stimuláció — legalábbis bizonyos rendszerekben — egy *gátlás depressziója*. Így részleges májeltávolításkor egy mitodepresszor inaktiválódik és jut a keringésbe. PHA-val történő stimulációnál a nyiroksejtek limfotoxint és egy nem toxikus gátlófaktort választanak ki a tenyészközegbe [98, 131]. A szteroid hormonok egyes citoszol receptorjairól is kimutatták, hogy azok transzlációs represszorok [127]. Feltételezik, hogy a mitogén kezelés utáni 30—60. percben kimutatható savas iniciátor fehérje szintézisét, és a peptid elongációt is egy transzlációs blokk feloldása teszi lehetővé [181].

Végül nyugvó oocitákban az X—II és X—III DNS polimeráz inhibitorát demonstrálták, ami a replikáció negatív szabályozására utal [21].

A preszintetikus, S, G_2 és M fázisok anyagcserefolyamatai

A sejtciklus kinetikáját röviden érintjük, a részletezés helyett magasszintű összefoglaló művekre utalunk [16, 18, 53, 120, 157, 159]. Az utóbbi időben többen rámutattak, hogy a sejtosztódás és DNS szintézis szabályzása nem az M, ill. S, hanem korábban, a G_1 fázisban történik [18, 57, 163]. A

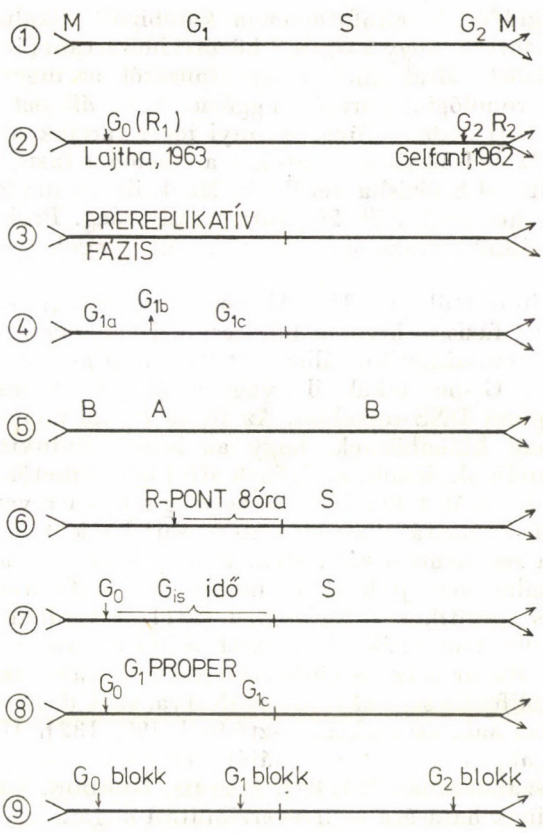
mitózis rekonstrukciós fázisát, mint arra az iniciálás tárgyalásakor rámutattunk, több csatornán zajló AS-folyamatok követik. Sorrendjük még tisztázásra szorul, néhány mechanizmus már ma is pontosan lokalizált. Így az előzőekben említetteken kívül a korai preszintetikus fázisban változik a nukleoláris templát aktivitása, az mRNS/rRNS és a cAMP/cGMP intracelluláris szintje. Az emberi C7 kromoszóma a $G_0 \rightarrow G_1$ átmenetben, az A3 6 órával az S fázis előtt, az E17 a G_1/S határon kódolja a ciklus metabolizmusát. A replikáció néhány kulcsenzimjének, így a DNS polimeráz I és II, a timidin-kináz és a timidilát-szintetáz aktivitása is már a késői G_1-ben emelkedni kezd (összefoglalásukat l.: [12, 19, 131, 159]). Újabban arra is rámutattak, hogy a DNS szintézist előkészítő folyamatok az előző ciklus G_2 fázisában is végbemehetnek, pl. egyes hepatoma sejtekben [195], vagy prokariótákban, mely utóbbiak nagy többségének nincs is G_1 fázisa [57].

Az S fázis főbb történéseit: a hisztonok szintézisét, replikonok, replikációs villák képzését, DNS elongációt stb. lényegében ugyancsak a G_1 fázis határozza meg. Szabályzásukat egy szolubilis citoplazmatikus fehérje (CF, I-faktor) irányítja; ez a pozitív regulációt gyakorló faktor a G_1-ben szintetizálódik [21, 170]. A korai és késői S fázison áthaladt sejtek a replikáció befejeztével a G_2-ben még a mitózishoz nélkülözhetetlen mRNS és fehérje (pl. tubulin) szintézise után [183] belépnek a profázisba, majd a meta-, ana- és telofázison áthaladva fejezik be ciklusukat. A sejtosztódás részleteit illetően új információként LITTLE és mtsai [133] gyűjteményes műve ajánlható.

A nyugalmi periódusok heterogenitása

A szabályozás finomabb mechanizmusának megértéséhez fontos adatokat nyújt a homeosztázisban, vagy a külső behatásra fellépő nyugalmi állapotok ismerete. A vizsgálati modellek sokasodásának és a mérőműszerek korszerűsödésének tudható be, hogy a lehetséges Q pontokra vonatkozó tudásanyagunk az utóbbi években ugrásszerűen nőtt.

Elsőként 1963-ban LAJTHA [119] emelte ki a hemopoietikus őssejtek preszintetikus nyugalmi állapotát és azt G_0 fázisnak nevezte el. A G_0 mai tudásunk szerint a korai G_1-re lokalizálható, homeosztázisban az őssejtek nagyobb hányadára terjed ki, de fiziológiás igény felléptekor, besugárzáskor, stimulátorok hatására [76, 119, 135, 198] a sejtek egy része ciklusba vihető. A szakirodalomban számos szerző ma is G_0-ként jelöli a nyugalmi periódusokat általában [138], holott azok idő- és jellegbeli heterogenitása már évek óta nyilvánvaló *(3. ábra)*. Így GELFANT és mtsai [75] 1962 óta kimutatták, hogy a fül sebzése után 1—3 órával nagyszámú sejt lép mitózisba; a MI felülmúlja a jelölődési indexet (LI). E gyorsan mobilizálható tartaléksejtek a G_2-ben stagnálnak, a gyors adaptációt segítik elő. Hasonló tetraploid alpopulációt mutattunk ki magunk a csontvelő promyelocyta kompartmentjében, mások gyökér merisztémasejtekben [12, 70]. A két alapvető nyugalmi periódus megkülönböztetésére EPIFANOVA és TERSKIKH [68] az R_1 (= G_0) és R_2 (= G_2) jelölést vezették be. Már említettük, hogy a biológiai szabályzásban az M és S fázisok közötti történések különös jelentőségűek [10, 19, 163]. PARDEE [159] tapasztalta, hogy a szérum, izoleucin vagy glutamin részleges megvonásakor a legkülönbözőbb sejtkultúrák egyidőben, 8 órával az S-fázis beállta előtt arretálódnak. *R-(restrikciós-)pontnak* nevezte el a ciklus e kritikus



3. ábra. A sejtciklus fázisai és nyugalmi periódusai
(1) HOWARD és PELC, 1953, (2) EPIFANOVA és TERSKIKH, 1969, (3) BASERGA, 1978, (4) TEMIN, 1971, (5) SMITH és MARTIN, 1973, (6) PARDEE, 1974, (7) RADLEY et al., 1976, (8) LINDGREEN és WESTERMARK, 1976 és (9) GELFANT, 1977 szerint

Fig. 3. Phases and resting periods of the cell cycle, according to the above authors

szakaszát. Mások kimutatták [130], hogy a telítési sűrűség állapotában gátolt sejteknek, ha szérummal, vagy EGF-el stimulálják, meghatározott ideig (8—12 óra) kontaktusban szükséges maradniuk a mitogén faktorral, hogy tovább haladhassanak a ciklusban. A „*commitment point*" után 5—8 órán belül [195] a sejtek akkor is megkezdik a reciklizációt, azaz S fázisba jutnak, ha a szérumot, vagy EGF-et megvonjuk a kultúrától. A G_0-ból, vagy R-pontból történt replikáció tehát két szakaszra különíthető: a „G_1 *proper*" igényli a GF közvetlen hatását, a „G_{1c}" *fázis* nem [29, 130]. Kérdés, hogy a gliasejtekben nyert tapasztalatok mennyire általánosíthatók, hiszen pl. a limfociták blasztoid transzformációja akkor is végbemegy, ha a fitohemagglutinint (PHA) 10' elteltével kimossák a kultúrákból. Újabban GELFANT [75] elméletet dolgozott ki a proliferáció szabályzására, amely azon alapul, hogy a G_0 blokkon kívül a *kései* G_1 *fázisban* is arretálódhatnak a sejtek. A két arretált

állapot autoradiográfia és citofotometria kombinált alkalmazásával jól elkülöníthető. Kimutatták, hogy a G_0 és S közötti időtartam (= G_{is}) tág határok, 3 óra és 6 nap között váltakozhat, a sejt típusától, az inger természetétől, a donor fajától és kronológiai korától függően. A *G_0 állapot mélysége* („deep-deeper G_0 state" [8]) attól is függ, mennyi ideig tartjuk a sejteket előzőleg konfluenciában. Ha WI-38 fibroblasztokat a stacioner fázis beálltakor stimulálnak, 8 óra elteltével S fázisba kerülnek. Ha 4, ill. 13 napig maradnak konfluenciában, a G_{is} hossza 14, ill. 20 órára nyúlik meg. Prolongált G_0 után a populáció reaktiválható frakciója és az izolált magok templát aktivitása csökken [8, 19].

Korábban kifejtettük [10, 12, 14], hogy a proliferáló sejtek „átmeneti" R_1 és R_2 nyugalmi fázisán kívül a homeosztázisban *nem osztódó statikus és végsejteket*, azok heteroszintetikus állapotát (G_H) *is Q periódusnak tekinthetjük*. Az R_3 ugyancsak a G_1-ben lokalizált, vagy attól deviált, hiszen a G_H sejtek nagy többsége diploid DNS tartalmú. Az R_1 és R_2-től mélységükben, tartósságukban és abban különböznek, hogy az ismert induktorokkal (szérum, GF-ek, prosztaglandinok, ionok, antigének stb.) nem vihetők ciklusba. Éppen utóbbiak miatt a kutatók tekintélyes része még ma is irreverzibilisen programozott, osztódási kapacitásukat elvesztett sejteknek tekinti őket. Ennek ellentmondanak a *reaktivációs* kísérletek. Bizonyos értelemben ide kell sorolnunk a morfológiailag végsejteknek tekinthető kis limfociták stimulálhatóságát aspecifikus és specifikus antigénekkel [131]. A legdöntőbb bizonyítékot azonban kifinomult technikákkal végzett *sejtfúziós* és *magtranszplantációs* kísérletek hozták. Madár magvas vörösvérsejteket, haránctsíkolt izomsejteket, sőt neuronokat proliferáló sejtekkel fuzionáltatva, azok *de novo* fehérjét, RNS-t és DNS-t szintetizálnak, esetenként osztódnak [90, 132]. Ugyanígy statikus sejtek magjait Xenopus pete citoplazmájába ültetve, azok átprogramozódnak és folyamatosan szaporodnak [21, 89]. HARRIS, GURDON, GRAHAM és mások zseniális kísérleteinek hatására az irreverzibilitási dogma lassan oldódni kezd. BASERGA [19] szerint „If there is a superior candidate for the title of G_0 cell it is the chick erythrocyte". Vagyis az R_3 sejtek ugyanúgy nyugvó állapotúaknak és triggerelhetőnek tekinthetők, mint a G_0 (R_1, R-pont, A-fázis, késői G_1 blokk) vagy R_2 fázisúak. A kérdés „csupán" az, milyen *oki magyarázat* adható a heterogén Q-állapotok létrejöttére?

A vonatkozó elméletek három nagyobb csoportba sorolhatók. (a) A Q-sejtek nem is nyugvók, csak lassan haladnak a ciklusban [163], (b) az R_1—R_3 különleges, a P-től minőségileg eltérő „unique physiological state" [12, 19], amely azáltal jön létre, hogy a target-sejtre protor hatott, vagy ellenkezőleg, a továbbhaladáshoz szükséges faktor kiiktatódott, és (c) SMITH és MARTIN [180] „transition probability" elmélete szerint potenciálisan a nyugvó, A-fázisban lévő sejtek bármelyike átkerülhet a determinált B-fázisba (S, G_2, M és korai G_1), csupán statisztikailag kisebb valószínűséggel.

Bármelyik elméletet vesszük alapul, a legfontosabb: milyen protorok hatnak a ciklus molekuláris folyamataira [19], AS-metabolizmusára? Az eddig megismert szelektív, endogén inhibitorok többsége, mint azt látni fogjuk, valóban azokban a fázisokban blokkolja a proliferáló alakokat, ahová a Q állapotok lokalizáltak: a G_1 és G_2-ben. S vagy M támadáspontú fiziológiás gátlófaktorról nincs megbízható szakirodalmi adatunk. A *gátlás feloldása* szempontjából a protorok különböznek; így a chalonok [98, 173] eltávolításakor azonnal megindul a proliferáció, amit rendszerint kompenzatórikus DNS

szintézis („overshot") követ. A hemopoietikus őssejtek ciklusba lépéséhez („switch on") azonban szelektív inhibitorok kimosása után külön stimulációra van szükség [119, 198]. A differenciált (G_H) sejtek hipotetikus intracelluláris represszióját [14] megszüntető faktorok kevéssé ismertek. Tény, hogy a nyugvó posztmitotikus magok reaktivációjához sejtfúziónál, vagy transzplantációnál citoplazmatikus faktor (CF) közreműködése szükséges [21]. Nem mindegy azonban, milyen fázisú citoplazmát választunk, nyugvó sejté úgy látszik nem alkalmas [19]. Ha pl. az egyébként reaktiváló hatású kínai hörcsög sejtek hőérzékeny *(ts)* mutánsát a „nonpermissive" hőmérsékleten G_1-ben arretáljuk, azok fúzionáláskor nem indítják meg a csirke vörösvérsejt DNS szintézisét. Izolált békamáj-mag replikációját kis limfocita extraktuma nem indukálja, stimulált, de még G_1 fázisban lévő nyiroksejté igen. LIPSCHICH és mtsai [132] fúzionálásra cytochalasin B-vel enukleált szinkronizált egér L 929 sejtek G_1, S és G_2 citoplasztjait használták fel. Csirke vörösvérsejteket legintenzívebben a G_1 citoplasztok reaktiválták, ha azt a magtérfogat növekedésében, nukleolus képzésében és a ^{3}H-uridin beépülésében mérték le. A DNS szintézist azonban csak S citoplasztok indukálták. A CF kémiai izolálása [188], szintézisének és támadáspontjának további vizsgálata haladást igér a sejtek nyugalmi állapotának megértésében.

Induktorok és stimulátorok

Kémiailag és biológiailag heterogén, jelenleg következetesen nem csoportosítható hatóanyagok. *Összetételükben* zömmel fehérjék, glikoproteidek, peptidek, aminosav származékok, vagy részlegesen tisztított extraktumok. *Sejtes eredetük* eltérő. A NGF pl. izolálható egér submaxilláris mirigyéből, kígyóméregből, egér sejtekből, 3T3 és SV3T3 sejtvonalból, csirke embrió fibroblasztból, gliasejtekből és neruronokból [34]. A thymopoietin, mai ismereteink szerint csak thymus epitelsejtjeiben szintetizálódik, a vele rokonhatású ubiquitin számos szövetünkben [81]. Egyes stimulátorok nyugvó sejtekben minimális mértékben, regeneráció hatásra nagy mennyiségben termelődnek. Így a szérum α-fetoprotein koncentrációja részleges májírtásnál [179], a hemopoietikus őssejtek stimulátoráé besugárzást követően [198] megemelkedik.

Ehelyütt csak azokat a hatóanyagokat tárgyaljuk részletesen, amelyeknek primer funkciója a sejtproliferáció serkentése. Az elsődlegesen HS-működésüket szabályozó vegyületcsoportokat, pl. mitogén hormonokat, antigéneket, prosztaglandinokat csupán érintőlegesen említjük.

Növekedési faktorok

Mint arra már rámutattunk, a GF-ek a protorok viszonylag egységes csoportját alkotják. Az EGF, FGF, OGF, MSA, PDGF (paramétereiket l. az *I. táblázat*ban) valamennyien 5—15 000 molsúlyú polipeptidek, amelyek ciklizáló target sejtjeik DNS szintézisét és osztódását pg-ng/ml-es mennyiségben serkentik, a Q-sejtekét pedig triggerelik [86].

Bár nem monospecifikus szabályozók, mégis hatásuk bizonyos szelektivitást mutat: az FGF pl. csak a mezodermális eredetű szöveteket stimulálja,

I/A. táblázat.: Néhány stimuláló faktor főbb paraméterei *Table 1.:* Main properties of some stimulatory factors

A stimulátor megnevezése	Producens szervek ill. sejtek	Target sejtek	Kémiai összetétel	Molekula súly	Fizikokémiai paraméterek	Biol. aktivitás	Vonatkozó irodalom
Epidermális növekedési faktor (EGF)	submax. mirigy, vizelet	bőrhám, corneahám, fibroblaszt, art. simaizom	polipeptid (szerk. képlete az 1. fej.-ben)	5 300 (ember) 6 045 (egér)	IEP = 4,6 3 S—S kötés	MED = 0,5 ng/ml	36, 47, 48, 55, 85
Fibroblaszt növekedési faktor (FGF)	hipofízis, agy	3T3 fibroblaszt, chondrocita, gliasejt, mellékvese, endotel	bázikus polipeptid	13 400	IEP = 9,5 inzulin és dexametazon potencirozza	MED = 0,0 0,01 ng/ml	85, 86, 107
Ovarium növekedési faktor (OGF)	hipofízis	ovarium	lizin- és arginin-gazdag polipeptid	13 000		MED = 10 ng/ml	84
Ideg-növekedési faktor (NGF)	submax. mirigy, fibroblaszt, glia, szarkoma, kígyóméreg, neuroblasztoma	neuronok	α, β, és γ alegységből álló fehérje	2,5S β-alegység monomerje: 13 259	IEP = 9,3 androgének potenciroznak	MED = 0,1 ng/ml	34, 147

I/B. táblázat

A stimulátor megnevezése	Producens szervek ill. sejtek	Target sejtek	Kémiai összetétel	Molekula súly	Fizikokémiai paraméterek	Biol. aktivitás	Vonatkozó irodalom
Sejtszaporodást stimuláló aktivitás (MSA)	szérum, Coon májsejtek	fibroblaszt, neuroblasztoma, izomsejt hepatocita	polipeptid	5—10 000	β-merkaptoetanol és tripszin-szenzitív IEP = 5,7—7,1		4, 29
Trombocita eredetű kationos növekedési faktor (PDGF)	trombociták	fibroblaszt	bázikus polipeptid	13—16 000		MED = 1,0 ng/ml	5, 92
Thymopoietin (TP) I és II	thymus epithelsejtjei	TRC	polipeptid Arg-Lys-Asp-Val-Tyr aktív fragmens	5 562	propanolollal gátolható	MED = 0,02 ng/ml	26, 35, 81, 82
Erythropoietin (EP)	hipoxiás vese, lép	ERC	glikoprotein	23 000 46 000 70 000			cit: [12, 145]
Kolónia stimuláló faktor (CSF, CSA, MGI)	monocita, szérum, vizelet, embriósejtek	CFU_c granuloid	fehérje	45 000 (ember) 68 000 (egér)		0,5 ng/kolónia	42, 88 145, 175

I/C. táblázat

A stimulátor megnevezése	Producens szervek ill. sejtek	Target sejtek	Kémiai összetétel	Molekula súly	Fizikokémiai paraméterek	Biol. aktivitás	Vonatkozó irodalom
Plazma tripeptid	szérum, szintetikus	hepatoma, limfocita, mycoplazma	Gly-His-Lys			MED = 2,0 ng/ml	162
Trimetillizin	szintetikus	limfocita, tumorsejtek	ε-N-metilezett lizin				184, 193
Mezenchimális faktor (MeF)	embrionális mezenchima	embrionális pankreász-hám	glikoprotein (membránhoz kötött)		termostabil, tripszin-érzékeny, kollagenáz rezisztens		168
α-fetoprotein	embrionális szérum, máj, és szikzacskó	máj	albumin				179
Citoplazmatikus faktor (CF, TLT)	TLT-hepatoma citoplazmája	egér L-sejt HeLa	*nem* peptid lipid, szénhidrát, vagy szteroid	150 (TLT)	pozitív töltésű, termostabilis, nagyobb molekulához asszociált		21, 188
Granulocita antichalon (Gr—AC)	leukoferezises szérum	mieloid sejtek	fehérje	~30 000			173

I/D. táblázat

A stimulátor megnevezése	Producens szervek ill. sejtek	Target sejtek	Kémiai összetétel	Molekula súly	Fizikokémiai paraméterek	Biol. aktivitás	Vonatkozó irodalom
Fibroblaszt antichalon (FAC)	szérum	WI-38 fibroblaszt	szialoprotein	2× 60 000	IEP = 5,2—5,4 termostabilis, tripszin és neuraminidáz rezisztens	MED = 50 μg/ml	98, 99
Szomatomedinek: SM-A SM-B SM-C	szérum	HeLa, glia, fibroblaszt, májsejt	neutrális-, savas-, lúgos peptid	7 000 5 000 7 000	GH-dependens szérum faktorok		86
Hemopoietikus őssejt stimulátor	regeneráló csontvelő	CFU-S		30—50 000			119, 198

az ekto- és entodermálisokét nem. Elnevezésük megtévesztő, mert túlnyomó többségük sejtszinten a replikációt és sejtosztódást serkenti. Ezenkívül elősegítik a szövettenyészetek túlélését, az EGF pl. emberi keratinociták generációszámát 50-ről 150-re emeli, az FGF az endotél-sejtek öregedését lassítja. Mai ismereteink szerint felnőttben nem proliferációs faktor a NGF [37, 147], amely az idegsejtek RNS, fehérje és lipid bioszintézisét, továbbá glukóz és nukleotida transzportját fokozza, dopamin-β-hidroxiláz és tirozin-hidroxiláz aktivitását emeli, serkenti nyulványképződésüket, a neurotubulus polimerázicióját, elektromos ingerlékenységüket, de a DNS szintézisnek és osztódásnak csak embrionális korban stimulátora. Valójában tehát a NGF a sejt növekedésének és differenciálódásának induktora. Hasonló funkciójúak a hemo- és limfopoiezis induktorai, a TP, EP és CSF is, de ezek közvetlenül (pl. a CSF a myeloid sejteké és makrofágoké) vagy közvetve a proliferáció pozitív szabályzói is. Az indirekt mechanizmus egy típusa az *amplifikáció*. Ha az erythronban hat osztódás történik, a CFU-E-ből 64 utódsejt képződik, az EP okozta amplifikációnál tíz mitózis esetén 1000 [119].

A biológiai funkció és kémiai szerkezet összefüggéseit jól demonstrálja a prothymocyták differenciálódását indukáló *TP*. Az indukció, sejtfelszíni markerekből ítélve már 20 pg/ml TP hatására 10' expozíció után végbemegy [81]. A ható vegyület 49 tagszámú (lásd *2. ábra*), de szintézise során bebizonyították, hogy a TP_{24-41} tridekapeptid fragmense, sőt a TP_{32-36} Arg-Lys--Asp-Val-Tyr összetételű pentapeptid is mutatja a teljes molekula biológiai tulajdonságait [82].

A TP hatását a filogenetikusan és sejttípusonként széles körben kimutatható *ubiquitin* szimulálja. Ez a 74 aminosavból összetett polipeptid nemcsak a T-, hanem a B-limfociták differneciálódását is indukálja, és a TP-vel szemben propranolollal gátolható. A TP-hez hasonló faktornak tartották a sertésvérből izolált *szérum thymus faktort* [26, 35]. Az STF (franciául FTS) NH_2-Glu-Ala-Lys-Ser-Glu-Gly-Gly-Ser-Asp-COOH szerkezetű nonapeptid, amely azonban az újabb vizsgálatok szerint [81] nem a TP-nek, hanem az ubiquitinnek biológiai analógja. Ugyanilyen a több komponensből álló *thymosin* is. A *bursopoietin* (B-poietin) rövid tagszámú, egyelőre csak részlegesen tisztított peptid, amely a B-limfociták differenciálódását indukálja.

Mitogén hormonok, peptidek, aminosavak

A *mitogén hormonok* közül szélesebb körű proliferációs hatású emlősökben a növekedési hormon (GH), szomatomedinek (SM), inzulin és a nem szupresszálható inzulinszerű aktivitás (NSILA) [115, 124, 127]. Általános felfogás szerint a GH közvetve, a SM-ek aktiválásával szabályoznak, bár az erythropoiezisre gyakorolt direkt hatásukat is kimutatták. A SM-A, -B és -C 5—7000 molsúlyú szérum-polipeptidek, amelyek a glia- és májsejteket, HeLa kultúrákat, fibroblasztokat és ovárium tumorsejteket egyaránt stimulálják. Az inzulin csirke embrionális fibroblasztok szaporodását fiziológiás dózisban serkenti, míg emlős sejtekét csak farmakológiás (10—20 μg/ml) adagokban. Mégis jelentős protor, mert más GF-eket potenciroz. Az etanol-oldékony NSILA 7000 molsúlyú polipeptid, amely anti-inzulinnal nem szupresszálható, de biológiai aktivitása tízszerese az inzulinénak. A peptid hormonok mediációját a yin-yang mechanizmussal működő *ciklikus nukleotidák* végzik. A stimu-

lált állapotra általában az alacsony intracelluláris cAMP és magas intracelluláris cGMP szint jellemző.

Növényi mitogén hormonok a *citokininek*, a gátlóhatású abszcizinsav antagonistái.

A teljesség kedvéért a DNS szintézist fokozó ágensek közül megemlítjük a *mitogén vírusokat* [18, 19] és *plazmidokat* [101] (utóbbiak önálló replikonként funkcionálnak a gazdasejtben), továbbá a limfociták stimulációját kiváltó aspecifikus (PHA, PWM) és specifikus *antigéneket* [131].

A *prosztaglandinok* csoportjából elsősorban a PGE_2 és $PGF_{2\alpha}$ stimuláló jellegét bizonyították [76, 106, 154]. Utóbbi pl. nyugvó 3T6 fibroblasztok DNS szintézisét hasonló mértékben iniciálja, mint az EGF és FGF; az inzulin mindhárom proliferációs faktort potencirozza [154]. Számos *polikation* tulajdonságú vegyületet ismertetnek pozitív szabályzóként, így a polilizint, dextrán protamint és metilezett albumint [121]. Hatásukat a poláros kölcsönhatásokkal magyarázzák, ti. csökkentik a polianion természetű gátlófaktorok, pl. α-glikoproteinek [156] negatív töltését. Magyar kutatócsoportok [184, 193] a retin-promin probléma [185] elemzésekor ismerték fel az *ε-N-lizinek*, pl. trimetil-lizin általános stimuláló hatását. Korábban rámutattunk, hogy a $>$ 5 000 molsúlyú polipeptid GF-eken túl számos természetes és szintetikus *oligopeptidről* bizonyították, hogy a sejtszaporodást stimulálják [162]. A *proteázok*, már néhány perces kezelés után is serkentik, a proteáz bénítók, pl. az N-tosil-fenilalanilklorometil-keton (TPCK) gátolják a normál és vírus-transzformált sejtek proliferációját [41].

Néhány hatóanyagot jelenleg csak részlegesen tisztított *extraktum* formájában ismerünk. Ilyen pl. a granulocita és fibroblaszt *antichalon* [98, 99, 173], vagy embriókban a *mesenchimális faktor* [168] és az *α-fetoprotein* [179], amelyekre már utaltunk.

A replikáció endogén intracelluláris stimulátorai a *citoplazmatikus faktorok* (CF, TLT-faktor [21, 188]).

A sejtszaporodás stimulátorainak főbb paraméterei

Néhány jellegzetes stimulátor főbb sejtbiológiai és kémiai paraméterét az *I. táblázat*ban tűntetjük fel. Recepciójukat, hatásmechanizmusukat, a daganatos proliferációval való kapcsolatukat, gyakorlati felhasználhatóságukat később tárgyaljuk.

A proliferáció endogén inhibitorai

Tudásunk jelenlegi szintjén — akárcsak a stimulátorokat — a sejtszaporodást gátló faktorokat is csak mesterségesen csoportosíthatjuk, szelektivitásuk és a viabilitásra gyakorolt hatásuk alapján. Az endogén inhibitorok egy része ismert, többnyire aspecifikus hatású molekula: biogén amin, polianion, szteroid hormon, nukleotida, peptid, aminosavszármazékok vagy enzim [109, 114]. A szövetekből extrahált gátlófaktorok: szérumkomponensek, LT, ECF, interferon stb. [136, 172] ugyancsak aspecifikus és részben toxikus hatóanyagok. A szabályzás szempontjából legjelentősebbek a szelektív, fiziológiás gátlófaktorok; többségük részlegesen, néhány közülük erősen tisztított

extraktumként ismeretes [12, 98]. Ezeket az endogén inhibitorokat — a mitodepresszív hormonok kivételével — a klinikumban ma még nem használják; a citosztatikumok többsége exogén hatóanyag.

Az exo- és endogén gátlófaktorok elhatárolása

A daganatok kemoterápiájában alkalmazott szerek növényi kivonatok vagy szintetikus vegyületek, mindenképpen *exogén*, aspecifikus és toxikus hatású inhibitorok. Rendszerint az aerob és anaerob glikolizist csökkentik, gátolják a DNS szintézist, redukálják a sejtmembrán áteresztőképességét, keresztkötéseket, aminosav-szekvencia módosulásokat hoznak létre. Főbb típusaik az alkilező szerek (mustárnitrogén, metánszulfonátok, etiléniminek és epoxidok), antimetabolitok (folsav antagonisták, purin- és pirimidin-analógok stb.), orsómérgek (Vinca-alkaloidák) és antibiotikumok [66, 114, 183]. Bár némelyikük kismértékű ún. tróp-szelektivitást mutat (limfo-, mielotrópia stb. [66], szelektivitásuk hiánya és toxicitásuk jelentős határt szab alkalmazásuknak.

A jelenleg intenzív kutatás szakában lévő *endogén* inhibitorok egy része elvileg sokkal pontosabb szabályozást tesz lehetővé, mert (a) természetes, fiziológiás regulátorok, (b) aktivitásuk szelektív vagy sejtspecifikus (c) a ciklust annak G_1 vagy G_2 fázisában nem-toxikus módon arretálják és (d) faj-aspecifikus, állati forrásokból nagyobb mennyiségben kinyerhető ágensek.

Aspecifikus endogén inhibitorok: biogén aminok, szteroidok, lipoproteinek, peptidek, interferonok

Az ide sorolható vegyületek többsége szerkezetileg ismert molekula. Elsődlegesen nem protorok, hanem HS-funkciók szabályzói vagy komponensei.

A *biogén aminok* szerepének megítélése nem egységes. Egyfelől stimulált DNS szintézis eseteiben megnő a sejtek di- és poliamin szintje és kulcsenzimjük, az ornitin-dekarboxiláz aktivitása, az enzim gátlásával pedig arretálni lehet a proliferációt [159]. Ugyanakkor több kísérletben demonstrálták a poliaminok gátlóhatását [3, 74]. A limfoid chalon hatóanyagául pl. az önmagában aspecifikusan gátló spermint jelölték meg, amely szövet-specifikus hordozó molekulához kötődve válik szelektívvé [3]. A reakció csak fetális borjúsavóval (FBS) kiegészített tápmédiumban megy végbe, humán- (HS) vagy lósavóval (LS) nem, a feltételezés szerint az FBS magas poliaminoxidáz (PAO) tartalma miatt. A dioxidált alak: $NH_2(CH_2)_3NH(CH_2)_4NH(CH_2)_2CH{=}O$ ugyanis markánsabban gátol, mint maga az $NH_2(CH_2)_3NH(CH_2)_4NH(CH_2)_3NH_2$ összetételű spermin [74]. Ellentmond a PAO feltételezett szerepének, hogy a limfoid chalon FBS-mentes közegben is gátol [13, 167], hatócsoportja nem lehet biogén amin [125], és hogy a spermin és spermidin, bár HS és LS jelenlétében a ^{3}H-timidin beépülését nem csökkenti, de az agar kapillárisban növő kolóniák számát redukálja [141, 143]. A korábbi feltételezésekkel szemben kimutatták, hogy a dioxidált spermin nem toxikus, és fázisspecifikusan, a ciklus G_1 fázisában gátol [74], amikor a poliaminok szintetizálódnak.

Az aspecifikus inhibitorok közé sorolnak számos *polianiont* [121], pl. glikoproteineket, glikopeptideket, az adenozint és néhány adenozin tartalmú nukleotidát, pl. NAD-ot és cAMP-t, *savanyú mukopoliszaharidát*, pl. heparint, egyes *enzimeket*, köztük az aszparaginázt, arginázt, fenilalanin ammónia liázt stb. [114]. Meghatározott *ionkoncentrációk*, így $< 0{,}1$ mM Ca^{2+}, 40 mM Rb^{+} ugyancsak gátolják a DNS szintézist és sejtszaporodást [32, 65].

A *szteroid hormonok* számos sejttípusra, így limfocitákra, hámsejtekre mitodepresszív, katabolikus hatást gyakorolnak, amit a daganatok kemoterápiájában is hasznosítanak. Gátolják az α-aminovajsav és glukóz felvételét, fehérje és nukleinsav szintézisét, fokozzák az aminosav leadását. Más sejttípusokra, így a májsejtekre anabolikusan hatnak; mindkét esetben az ún. rate-limiting step egyes transzaminázok enzimaktivitásának nagymértékű emelkedése [115, 127].

Végül a gátlóhatású *peptidek* és *aminosav*származékokról néhány adat; előrebocsájtva, hogy a terület nagy fejlődés előtt áll. Két nagyobb csoportjukat említjük: (a) a proliferációt közvetlenül, többnyire aspecifikusan és toxikusan gátló *antineoplasztikus* peptidek és (b) a szervezeti védekezési mechanizmusokat mobilizáló peptidek, pl. a *leukokinek*.

Az antineoplasztikus peptidek nagy részét vérből, vizeletből és ascites folyadékból izolálták. Az emberi hemoglobin α-láncának tripszines emésztésével egy Val-Leu-Ser-Pro-Ala-Asp-Lys összetételű heptapeptidhez jutottak, melyet szintetizáltak is [190]. A peptid axenikus kulturában 10^{-5}—10^{-7} M-os koncentrációban toxikusan hatott szíriai hörcsög carcinoma sejtvonalra; aktivitása szérumfehérjékkel ellensúlyozható. Daganatos betegek ascites folyadékából egy $\sim$ 2000 ms-ú Ala, Arg, Cys, Glu, Gly, Leu, Tyr és Val-t tartalmazó toxikus peptidet izoláltak. Normál emberi vizeletből is elkülönítettek 10—15 aminosavat tartalmazó neutrális és enyhén savas peptideket [20, 44]. Hatásukra a letapadt emlő-carcinoma sejtek lekerekednek, tripánkékkel festhetőkké válnak, citoplazmájuk megnagyobbodik, anélkül, hogy mitózisba jutnának. E toxikus peptidek támadáspontja a ciklus S fázisa. Izoláltak erősen savas jellegű 80 %-os etanolban oldódó molekulákat, szulfatált glikopeptideket is [44], amelyek bizonyos szelektivitást mutattak emberi AML, illetve HeLa kultúrák gátlásában.

A fehérvérsejteket mobilizáló peptidek (limfokinek, leukokinek) példájaként az indirekt tumorgátló *tuftsint* említjük. E tetrapeptidet a szérum IgG frakciójából izolálták, majd szintetizálták [151]. Összetétele: Thr-Lys-Pro-Arg. Kimutatták, hogy AML-ban a szérum tuftsin szintje alacsony és egybeesik a magas infekció-gyakorisággal. Közvetlenül nem befolyásolja a daganatos proliferációt, de a neutrofilek, monociták és makrofágok membránjához kötődve fokozza fagocitotikus aktivitásukat. Így *in vitro* megnöveli a makrofágokkal együtt inkubált L 1210 leukémia sejtek pusztulását, *in vivo* pedig az L 1210 egértörzs túlélési idejét.

Az aspecifikus gátló protorok egy részét csupán *részlegesen tisztított extraktumok* formájában ismerjük. A *szérumokból* izolált inhibitorok közül kiemeljük a *α-globulinokat*, a *fetuint* (limfociták membránreceptorait blokkoló glikoproteint), a kis denzitású (LDL és VLDL) *lipoproteineket* [87, 95]. A *sejtekből kivont* toxikus faktorokra a limfociták példáját említjük. Antigénekkel stimulált humán limfociták 85—100 000 molsúlyú, 6,8—8,0-as IEP-u globulint, *limfotoxint* (LT) választanak ki a tenyészközegbe. Tengerimalacból 45 000 molekulasúlyú, savasabb, 5,2 IEP-u LT-t izoláltak. Normál és CML

lépből tisztították az ún. *endogén citotoxikus faktort* [136]. Az ECF ~ 1000 molsúlyú, 15 μg/ml dózisban hatékony peptid vagy glikopeptid, a *retinnel* [185] több hasonlóságot mutató, de annál nagyobb molekula.

Az *interferonok* antivirális (AV) aktivitásokon túl sejtszaporodást gátló (CMI) tulajdonsággal rendelkeznek. A szelektív protorokkal szemben az interferonok fajspecifikusak, ugyanakkor termolabilisak és tripszin-érzékenyek [172]. Feltehetően a DNS-szintézis rátáját csökkentik, ugyanis a jelölési index és szemcseszám párhuzamosan csökken dózisfüggő adagolásukkor. Kimutatták, hogy az AV és CMI aktivitás egybeesik: SDS poliakrilamid gélen frakcionálva humán leukocita, ill. C-243 egér interferon készítményeket, két-két azonos molekulatartományból nyerték vissza az AV és CMI-t: emberi anyagnál a 21 000 és 15 000, egérnél a 38 000 és 22 000 daltonos peak-nál. Valószínűsítették, a CMI hatás mechanizmusa az, hogy (a) egy olyan protein kinázt aktiválnak, amely az eukarióta iniciáló faktor kis alegységét (eIF-2, l. később és [187]) foszforilálja, és (b) aktiválja az oligoizoadenilátszintetáz rendszert; mindkét mechanizmussal a sejtciklus transzlációs gátlását idézve elő.

Szelektív hatású endogén gátlófaktorok

Az ebbe a kategóriába tartozó inhibitorok értékét szelektivitásuk és fiziológiás, nem toxikus hatásmódjuk adja meg. Kémiai tisztításuk és szintézisük előrehaladása várhatóan a karcinogenezis [25, 103, 153] és daganatkemoterápia [113, 146, 174] kutatásának új ágát nyitja meg. Egyrészük megfelel a chalon kritériumnak [39, 173]: azonos sejttípusban szintetizálódó és negatív feedback mechanizmus útján reverzibilisen ható diffuzibilis, monospecifikus inhibitor. Más típust képvisel azonban pl. a CFU-S gátlófaktora, amelyet nem a hemopoietikus őssejt szintetizál [119, 135, 198], vagy a májból izolált, de limfocita sejtszaporodást arretáló szelektív, 65 000 ms-ú fehérje [177]. Néhány chalon-ként megnevezett inhibitorról kiderült, hogy nem monospecifikus [12, 73], más preparátumokat sem szelektivitásukat, sem egyéb paramétereiket illetően nem vizsgáltak behatóan.

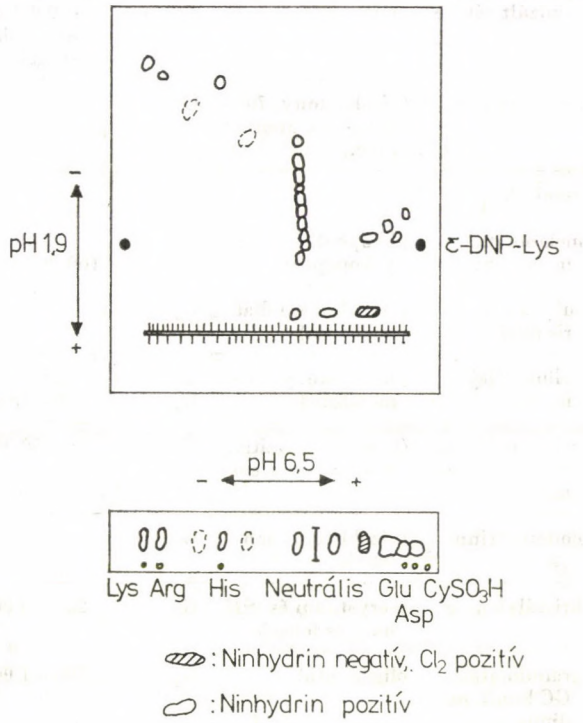
Kémiai természetében a szelektív endogén inhibitorok többsége peptidnek, glikopeptidnek vagy proteidnek bizonyult. Jelenleg az analízisek — a hatóanyagok szennyezettsége miatt — nem elég megbízhatóak. Így pl. a limfocita chalonról feltételezték, hogy fehérjék, RNS-kationos peptid komplexek, vagy sperminnel asszociált karrier fehérjék [3, 98, 108].

Azóta bebizonyosodott, hogy nem minden preparátum RN-áz szenzitív [125, 141], a kismolsúlyú komponens savas peptid [141], a spermin részvétele vitatható [125, 167].

A biológiai és kémiai izolálást nehezíti, hogy egyes rendszerekben 2—4 szelektív gátlófaktort is leírtak, amelyek vagy a sejtciklus eltérő fázisaiban hatnak [24, 38, 67, 191], vagy egy aggregált molekula alegységei [155]. A szelektív gátlóaktivitást a részlegesen tisztított frakciókban jelenlévő toxikus faktorok [7, 20, 99, 136], vagy stimulátorok [13, 27, 98] esetenként elfedhetik.

Mindezek következtében a kutatások előterébe a kémiai tisztítás lépett. A legnagyobb haladást a JB-1 ascitesből [24], májból [156], limfocitákból [141] és granulocitákból [112, 160, 174] kivont kis molsúlyú gátlófaktor tisztításában érték el. Utóbbi inhibitornak már a molsúlyát (590) és kvalitatív

aminosav-összetételét (Asp, Ser, Glu, Leu, Tyr) is közölték, amelyet később a Cys és Pyr-ra korrigáltak [160]. Az ellentmondás oka, hogy az analizált preparátum nem teljesen egynemű, és az utolsó tisztítási lépések után nincs visszatesztelve. Magunk a homogenitásig tisztított és biológiailag verifikált léperedetű granulocitákra ható peptid izolálását közöltük [15]. A klór-tolidin pozitív dekapeptid pH 6,5-ön végzett papírelektroforézis során negatív töltésű, Asp-hoz viszonyított mozgékonysága —0,60, pH 1,9-en töltése nincs, mobilitása ε-DNP lizinhez viszonyítva 0,26 *(4. ábra)*. Aminosav összetétele: Asp_1,



4. ábra. Az elsőként homogenitásig tisztított endogén inhibitor izolálása.
A részlegesen tisztított granuloid GI-3 frakció peptidtérképe pH 6,5 és 1,9-en végzett kétdimenziós papírelektroforézis után. ▨ = az aktív és mielospecifikus dekapeptid (Balázs, Sajgó, Klupp és Keményi, [15]).

Fig. 4. Chemical isolation of the first selective endogenous inhibitor of cell proliferation, purified to homogeneity. Peptide map of the partially purified GI-3 granuloid fraction, after two-dimensional paper electrophoresis at pH 6.5 and 1.9. ▨: the active decapeptide, myelospecific in nature (Balázs, Sajgó, Klupp and Keményi [15])

Ser_2, Thr_1, Glu_2, Gly_2, Ala_2, Pro_1, $taurin_1$. Szabad amino végcsoportja nincs. Targetsejtjeire *in vitro* 0,2—3,0 pmol/ml mennyiségben hatékony.

Az alábbi, *II. táblázat*ban összefoglaltuk néhány szelektív endogén inhibitor-frakció paramétereit. Hatásmechanizmusuk, daganatbiológiai funkciójuk és gyógyszeripari felhasználhatóságuk ismertetésére később kerül sor.

II/A táblázat. Szelektív hatású endogén inhibitorok néhány főbb paramétere

Table 2. Main parameters of the selective endogenous inhibitors

Target	Producens	Kémiai összetétel	Támadáspont a ciklusban	Molsúly	Irodalom
Epidermis	epidermis bazális rétege, dermis	glikoprotein (65% aminosav, 15% szénhidrát)	G_2	35 000	67, 104, 155
	epidermis keratinizált rétege	glikopeptid + protein	G_1	2—300 000 (20 000 ms-ú aktív alegységgel)	67, 140, 155
Faggyúmirigy	faggyúmirigy	(vízoldékony, 70—80%-os etanolban prec.)	G_2		39
Verejtékmirigy	verejték				39
Melanocita melanoma	melanocita, melanoma	glikopeptid glikopeptid	 G_1	2 000 160 000	113, 146
Submandibuláris mirigy	submandibuláris mirigy	(vízold., nem dial. molekula)	G_1		17
Jejunum	bélhám (jejunum)	(vízoldékony, termolabilis)	G_2 G_1	<2 000 120—150 000	38, 191
Colon SW-48 colon cc.	colon, colon cc. kond. médiuma	(tripszin szenzitív, RN-áz rezisztens)	G_1	10—50 000	98
HeLa	endometrium	(vízoldékony molekula)	G_1		cit: [12, 98]
Szem kristálylencse	kristálylencse	γ-crystallin és -SH mentes fehérje	G_2	20—30 000	cit: [12]
Granuloid sejtek (CFU_c—MC)	granulociták GC kond. médium	oligopeptid	G_1	500—1 000	11, 15, 112, 160, 174
	granulociták	polipeptid v. proteid	G_1 G_1/S	$\sim$11 500	12, 27
	granulociták	protein v. proteid	G_1/S	50—100 000	12, 27
Erythroid sejtek	vvs., vizelet	(vízold., haem-et nem tart.)	G_1		110, 129
	vese homogenátum szolubilis frakció	(vízold., tripszin rez.)			cit: [12]
	vese homogenátum zsírold. frakció	lipoprotein			118
Megakariocita	trombociták				

II/B táblázat

Target	Producens	Kémiai összetétel	Támadáspont a ciklusban	Molsúly	Irodalom
Limfoid sejtek	thymus, lép, fehérvérsejtek	peptid	G_1	1 400—2 000	125, 141
		proteid	G_1 G_1/S	20—50 000	3, 28, 73, 99, 108, 125, 167
CFU-S	nem regeneráló csontvelő	(tripszinszenzitív mol.)		50—100 000	119, 135, 198
Fibroblaszt	fibroblaszt	(butanol old. rermostabil)		4—900	cit: [12]
		(tripszinszenzitív, termolabilis) proteid	G_1	30—50 000	99
Máj	máj	oligopeptid	$G_1 + S$	<1 000	61, 178
	máj vérplazma	α_1-glikoprotein α_1-makroglobulin	G_1	40—42 000	156 és cit: [12, 98]
Vese	vese	glikoprotein	G_2		176
Tüdő	normál tüdő, tüdő cc.	(tripszin szenz., RN-áz és DN-áz rezisztens)	G_2	10—50 000	98*
Spermatogonium-A	here	(vízoldékony molekula)			54
Emlőmirigy	emlőmirigy			2—3 000	83
Arteriális simaizom	aorta	(80%-os etanolos prec.)			cit.: [19, 98]
JB-1 ascites	JB-1 ascites	oligopeptid	G_1	<2 000	24
		fehérje	G_2	10—50 000	

* Nálunk újabban MENYHÁRT és MARCSEK (személyes közlés) izolált szarvasmarha tüdőszövetéből olyan 30—50 000 molsúlyú, termolabilis, Folin pozitív hatóanyagot, amely a tüdő 2. típusú alveoláris sejtjeinek DNS szintézisét *in vivo* és *in vitro* szelektiven gátolja.

A protorok sejtbiológiai hatásmechanizmusa

A stimulátor és inhibitor mechanizmus elemzésekor azok szintézisének, produkciójának helyét és időfüggését kell tisztáznunk, majd a támadáspontot meghatározni a target sejtek kompartmentjei, cikluson belüli fázisai, szubcelluláris és molekuláris lokalizációjuk szerint.

A *produkció helyét*, továbbá a producens- és targetsejtek kapcsolatát illetően nagy heterogenitás mutatkozik. A szelektív *stimulátorok* közül az EP primer szintézisének helye a target csontvelősejtektől távoleső hipoxiás vese;

újabban lépben is kimutatták [119]. A TP már thymusban, de nem thymocitákban, hanem a környező epitél-sejtekben termelődik [81]. A granulopoiezist serkentő CSF az ún. kolónia stimuláló sejtekben (CSC), elsősorban monocitákban képződik [37, 145], szubcellulárisan membránhoz kötötten fordul elő, a mitokondriális frakcióban és magban alig [164]. A mitogén hormonok ugyancsak jól lokalizálhatóan endokrin sejtjeikben szintetizálódnak és kerülnek a cirkulációba. A szorosabb értelemben vett növekedési faktorok már multiproducens eredetűek [86]; esetenként az adott sejttípuson belül pontosabb lokalizáció ismeretes. Így a NGF [34] immuncitokémiai módszerekkel a szubmandibuláris mirigy apikális szekréciós szemcséiben detektálható, és tesztoszteron-kontroll alatt áll. A PDGF trombociták α-granulumában halmozódik fel blokkolt állapotban. Csak a vérlemezkék letapadása és a granulumok kibocsájtása után aktiválódik [5]. Más nem-specifikus stimulátorok, pl. az ubiquitin sejtes eredetükben és filogenetikailag is általános előfordulásúak [81]. Az *inhibitorok* közül a hemopoietikus őssejt szabályozója nem a CFU-S-ben szintetizálódik, mert marhaszérum grádiensen szétválasztva a gátlófaktor az 1,052—1,060 gm/cm^3, az őssejt az 1,070—1.076 gm/cm^3 frakcióban koncentrálódik [198]. A chalonok általában a végsejtekben termelődnek és a cirkuláció, vagy diffúzió útján jutnak a homotíp prekurzor célsejtekhez [39, 173]. A statikus sejtek represszora, vagy a retin-promin típusú protorok ugyanabban a sejtben szintetizálódnak, amelyre hatnak is [14]. Az inhibitorok szubcelluláris lokalizációját — a módszertani lehetőségekhez képest — eddig keveset vizsgálták. A 3T3 sejtek gátlófaktora és a melanocita kontakt inhibitor (MCIF [113]) főként membránhoz kötötten, a MCIF az endoplazmás retikulum-frakcióban is előfordul. Az eritroid chalont és az eIF inhibitorát a producens sejtek citoplazmájából izolálták [110, 187].

A protorok szintézise esetenként folyamatos, így a granulocita chalonról kimutatták, hogy óránként kimosva hosszú időn át újratermelődik [98, 173]. Emellett, pl. a mitózisok diurnális ritmusából [40], vagy a regulátor peptidek fluktuációjából [123] következtethetően, szakaszosság is észlelhető.

Kompartment szerinti támadáspont

A protorok közül egyesek a target sejtek valamennyi érési fokozatát, mások csak meghatározott kompartmentjeiket aktiválják, vagy gátolják. Legvilágosabban ez a multikompartmentális rendszereken figyelhető meg. A hemopoietikus rendszerben pl. az őssejtek, prekurzorok és differenciált elemek külön szabályzás alatt állnak [12, 119]. A csontvelőből olyan gátló és stimuláló faktorokat izoláltak, amelyek — sztöchiometrikus arányban — csak az őssejteket regulálják, de nem befolyásolják az elkötelezett (commited) utódsejtek (BFU-E, CFU-E, CFU-d, CFU$_c$, prothymocyta, megakariocitoblaszt stb.) proliferációját [76, 135, 198].

Az inhibitor 50—100 000 ms-ú, nyugvó csontvelőből izolálható, a stimulátor hidroxiureával vagy fenilhidrazinnal indukálható, vagy regenerálódó csontvelőből vonható ki [119, 198].

A mitózis-típusok tárgyalásakor említettük, hogy az őssejtek önfenntartó α-2-α-osztódások mellett a következő kompartmentbe átvezető α-2-N és N-2-N mitózisokra is képesek. Ma még keveset tudunk arról, mi befolyásolja, hogy az „N" hemopoietikus utódsejtek eritroid, granuloid, limfoid vagy meg-

akariocitoid progenitorok lesznek. Bizonyos szelektivitást létrehozó tényezőket azonban már ma is ismerünk, és tudjuk, hogy a hatást protorok közvetítik. Így citozin arabinozid (Ara-C)-val kezelt állatok csontvelőjéből végzett transzplantálás után az E/G kolónia arány megnő. Policythaemiás recipiensekben nem fejlődik ki E-kolónia, de ez EP kezeléssel kompenzálható. A mikrokörnyezet tehát meghatározza a differenciálódás expresszivitását, determinációját azonban nem [119, 198]. A lószérumban lévő faktorok, vagy radioaktív besugárzás viszont csökkenti a keletkező E/G kolónia arányt. CSC-k jelenléte, CIC (colony inhibiting cell) távolléte, CSF stimuláció ugyancsak a G-kolóniák kifejlődésének kedvez [37, 105, 145].

Az elkötelezett hemopoietikus sejtekből: granuloid [11, 22, 135], eritroid [22, 135] vagy limfoid [73, 135] elemekből izolált szelektív inhibitorok (chalonok) a hemopoietikus őssejtekre hatástalanok. Ezzel szemben gátolják a homotip prekurzorok (pl. mieloblasztok, promielociták, mielociták) szaporodását [160, 173], növelik kettőződési idejüket, s egyben a Q-státusú nyugvó elődsejtek arányát [22, 30].

A differenciált kompartment (végsejtek, statikus sejtek), mint azt korábban kifejtettük valószínűleg külön intracelluláris represszor szabályozása alatt állnak [12, 14].

A sejtciklus szenzitív fázisai

Az előző fejezetben számos példával demonstráltuk, hogy homoesztázisban a sejtek haladása a ciklusban az R_1, R_2 vagy R_3 nyugalmi állapotokban lelassult, vagy teljesen arretálódhatnak. A kiváltó okok közt elsősorban a kvalitatív vagy kvantitatív éhezést, hideg-, melegsokkot és stimilátorok hiányát említettük. Kézenfekvő gondolat, hogy a ciklus G_1 és G_2 fázisra lokalizálódó blokkokat *fázis-specifikus protorok* is létrehozhatják. Kétségtelen tény, hogy az eddig izolált gátlófaktorok túlnyomó többségének támadáspontja a G_1 vagy G_2 szakasz. A chalon-kutatásban elsőként a 2—3 órán belül mitodepressziót kiváltó epidermális G_2-faktort ismerték fel [40, 104]. Hasonlóan G_2 támadáspontú a tüdő alveoláris sejtjeire [98], a faggyúmirigyekre [39], a szem kristálylencséjére [cit: 12] vagy a vesére [176] ható, homotip sejtekből előállított szelektív inhibitor. E csupán részlegesen tisztított emlős-protorok mellett említést érdemel, hogy növényekben sikerült a homogenitásig tisztítani és kémiailag azonosítani a gyökér- és szártenyésztőcsúcsok sejtjeit G_2 fázisban arretáló vegyület [70]. A trigonellin (N-metilnikotinsav [137]) borsó szikleveleiben szintetizálódik. 1600 növényből 50 μg tiszta G_2 faktort izoláltak, melyet „mitotikus hormonnak" tartanak.

A chalonok vizsgálatának néhány évvel későbbi szakaszában Actinomycin D kezeléssel, továbbá a bazális és keratinizált réteg szétválasztásával bizonyították, hogy az epidermis a G_2 inhibitoron kívül egy magasabb molsúlyú, a ciklus G_1 szakaszát arretáló glikoproteidet is tartalmaz [67, 155]. Ugyanazon sejttípusban tehát két különböző szelektív inhibitor funkcionál, melyeknek lokalizációja és fázis-specifitása is eltérő. Hasonlóan két faktort detektáltak a jejunumban [38, 191] és JB-1 ascites sejtekben is [24].

Egy vagy több, de G_1-specifikus szelektív gátlófaktor működik melanocitákban [113, 146], a szubmandibuláris mirigyben [17], a vastagbélben [98], granulocitákban [15, 112, 160, 174], vörösvérsejtekben [110, 129], limfocitákban [3, 73, 99, 125], fibroblasztokban [99] és májsejtekben [156]. Az eddig

megismert szelektív inhibitorok többsége tehát G_1 támadáspontú, ami azért sem meglepő, mert nemcsak a proliferáló, de a statikus populációk zöme is a ciklus preszintetikus fázisában kerül nyugalmi állapotba.

Az *aspecifikus* endogén inhibitorok és stimulátorok, akárcsak az exogén citosztatikumok, fázis-specifitás szempontjából heterogénebbek, mint a szelektívek. Az oxidált spermin G_1 [74], a cAMP és db-cAMP G_1 és G_2, [2, 144] a putreszcin S támadáspontú. A DNS szintézis poliamin-gátlók által kiváltott csökkenésekor valószínűleg nem a lánc-elongációban, hanem a replikonok képződésében lép fel defektus.

A fázis-szelektív protorok elsődleges hatása az adott szakasz fázisidejének meghosszabbítása (pl. az epidermális G_2 chalon esetében) vagy lerövidítése (pl. redukált t_s stimuláló poliaminok alkalmazásakor, [cit: 12]).

A sejtmembrán, a citoplazma és sejtmag receptorai

A proliferáció stimulátorai és inhibitorai elsőként a receptorokhoz kötődve kerülnek kapcsolatba a sejttel. A szubcelluláris támadáspontok vizsgálata és a receptorok osztályzása most van kialakulóban, pontosabb ismeretek nagyobb számú szintetikus jelölt termék előállítása után várhatók.

Mai tudásunk szerint a protorok tekintélyes része *membrán-receptorokhoz* kötődik. A ligandok közül a GF-eket, mitogén peptid hormonokat, katekolaminokat, tumor promotereket, lektineket és specifikus antigéneket, továbbá néhány gátlófaktort említhetünk.

Legalaposabban a ^{125}I-EGF-et vizsgálták [47, 94]. Humán fibroblasztok specifikus receptorai 8 ng/ml ($1{,}5 \times 10^{-9}$ M) EGF koncentrációnál telítődnek. A DNS szintézis maximuma azonban már 2 ng/ml EGF-el is kiváltható, a receptorok tehát négyszeres feleslegben helyezkednek el a sejthártyán. Kimutatták, hogy a kötődést követően a ^{125}I-EGF nem bomlik el, mert 0,1 N sóssavval kioldva és tisztítva reutilizálható. A ligand receptor (L-R) kapcsolat átmeneti: 2 órás inkubáció után az eredeti radioaktivitásnak már csak 5—15 %-a marad sejthez-kötött állapotban [47]. A receptorok száma sejtek szaporodási állapotának is függvénye: log fázisú gliakultúrákban 20 000, denz tenyészetekben 36 000 EGF kötőhely található. Nem módosul viszont a receptorszám a donor korának előrehaladtával: 22—31, ill. 65—80 éves korcsoportból vett bőr fibroblasztok EGF, ill. inzulinkötő képessége azonos [94]. Az EGF specifikus receptorokhoz kapcsolódik, amely eltér a peptidhormonokétól. Nincs vele kompetícióban a GH, SM, NSILA, prolaktin, TSH, sőt a GF-ek közül a FGF és MSA sem [47]. Érdekes, hogy a tumor promoterként ismert forbol-észter, a TPA és PDD gátolja az EGF-R kötődést, a nem promoter 4-0-metil-TPA nem. Az MSA kötőhelye a peptid hormonokéval rokon: NSILA, SM-A és inzulin gátolja, EGF, FGF és NGF nem. A CSF és EP egyaránt membránreceptorokkal kapcsolódnak és egymással kompetícióban állnak: a CSF elnyomja a „burst" képződést és hemoglobin szintézist. az EP viszont a granuloid-makrofág kolónia képzést [145]. A thymocytákat indukáló anyagok közül a TP hatása propranolollal nem gátolható [81], az ubiquitiné és TFS-é igen [26, 35], utóbbiak feltehetően a β-adrenerg receptorokhoz kötődnek. Önálló TP-receptorok létezését az is bizonyítja, hogy a prothymocyta ubiquitin kötőhelyei teljesen blokkolhatók 100 μg/ml ibuquitinnel, de a sejt TP-re ezt követően is szuszceptibilis marad [81].

A stimulátorok közül az említetteken kívül a mezenchimális faktor és PDGF membrán-recepcióját bizonyították [5, 168]. Az *inhibitorok* membrán kötődésére kevés az adat. A granulocita chalon esetében tripszines emésztéssel kombinált cikloheximid kezeléssel, a limfocitákban a PHA stimulációt követő kimosással valószínűsítették a membránhatást [7, 98, 160]. Feltételezik, hogy az epidermális G_2 chalon a β-adrenerg receptorokat aktiválja, mert propranolol felfüggeszti a gátlóhatást, szemben az epidermális G_1 [140], vagy a T_4-1 limfocita inhibitorokkal [13].

Hogyan megy végbe az L-R kötődés után a protor-szignál *mediációja?* Jelenleg 3 főbb mechanizmus valószínűsíthető:

(a) a peptidhormonok klasszikus hatásmódjához hasonlóan [49] az L-R komplex az adenilcikláz—cAMP, vagy guanilcikláz—cGMP rendszert [86] aktiválja;

(b) a receptor a ligandot (adott esetben protort) átjuttatja (transzferálja) a citoplazmába és ott a protor megkezdi a mediációt;

(c) az L-R komplex endocitózis útján bejut a plazmába, ahol (kloroquinnal gátolható) lizoszomális degradáció következtében válik szabaddá a protor (^{125}I-EGF-el bizonyították [47]). A mechanizmus erősen időigényes, és egyik magyarázata lehet annak, hogy GF-ek vagy peptid hormonok alkalmazása után esetenként jelentős időtartamú *deszenzitív* (refrakter) fázist mutattak ki. (Adenilcikláz-függő mechanizmus esetében az enzim átmeneti inaktiválódása a lehetséges ok [49].)

Egyes faktorok nem a sejtek felületéhez asszociálódnak, hanem a szérumfehérjékről — melyekhez kis affinitással kötődnek — leválva szabadon bediffundálnak targetsejtjeik plazmájába. A *citoplazmatikus receptorok* klasszikus példáját a szteroid hormonok hatásvizsgálatakor írták le [115, 127].

A sejtmembránon áthatolva a jelölt szteroidok 5—60 percen belül a citoszol receptorokhoz (CyR) kötődnek. A CyR-ok nem-szférikus savas fehérjék; molsúlyuk 50 000—200 000 D, szedimentációs állandójuk 8,0—9,5 S; az összfehérje 0,004, a citoszol fehérje 0,02 %-át alkotják. Számuk sejtenként 2 000—100 000 közt mozog. Egyes szerzők két, mások három CyR-t (pl. májban A, B és G) mutattak ki. A szteorid-CyR komplex a citoplazmából 15—120 perc alatt a magba jut, ahol az *akceptorhoz* specifikusan kapcsolódik. Rekonstitúciós kísérletekben pl. bebizonyították, hogy a progreszteron-petevezeték CyR komplex fajlagosan a petevezeték-kromatinhoz kötődik. Feltehetően az akceptor a DNS molekula meghatározott szegmenseit represszáló fehérje. Amennyiben hiszton, a kötés kis affinitású és nem specifikus, savas fehérjeként nagy affinitású.

A szteroidok nemcsak a nukleáris akceptoron át (transzkripció), hanem citoplazmatikus, transzlációs szinten is szabályozhatják a sejtproliferációt [127]. A szabályozás iránya sejttípustól és dózistól függően lehet: arretáció a vitalitás csökkenése nélkül; citocid, toxikus hatás; stimuláció; a t_G megnyújtása vagy lerövidítése [58, 115].

Számos protor citoplazmatikus jelenléte, így a CF [21, 89], a TLT [188], az eIF [187], a MCIF [133], az eritroid chalon [110] és egyéb faktoroké, továbbá a transzlációs szabályozás lehetősége [115, 127] és a membrán L-R komplexének internalizációja [47] valószínűsíti, hogy a citoplazmatikus recepciónak nemcsak szteroid hormonok, hanem egyéb stimulátorai és inhibitorok esetében is funkcionális jelentősége van.

Molekuláris szintű szabályozási mechanizmusok

Amikor a pozitív vagy negatív szabályozók kontaktusba lépnek target sejtjeikkel, összefüggő anyagcserefolyamatokat indítanak el, melyek lényege a génaktiváció, új fehérje, RNS és DNS szintézise, végül sejtosztódás. Most a pleiotipikus reakciók koncentráció és időfüggését, továbbá a szignál mediációját követjük a receptortól a génaktiválódásig.

A protorok aktivitásának dózis- és időfüggése

A sejtszaporodás vizsgált paramétere (DNS szintézis, MI, sejtszám stb.) monoton növekszik vagy csökken a protor-*koncentráció* függvényében és rendszerint telítési görbével ábrázolható. Leírták emellett a proliferációs jellegek optimum görbe szerinti változásait [cit: 12], főként részlegesen tisztított preparátumok esetében. Inhibitorok esetén ilyenkor közepes koncentrációk erőteljesebben gátolnak, mint a nagy dózisok. Ismeretes a kétfázisú hatásgörbe is: alacsony koncentrációk, kis sejtsűrűség mellett stimulálják, magas dózisok gátolják a proliferációt, pl. limfoid inhibitor, szteroidok, cAMP alkalmazásakor [98].

A protorok aktivitása nemcsak dózis-, de *időfüggő* folyamat is. Két vonatkozását említjük: a minimális hatásidőt (a hatóanyag bevitele és a vizsgált jelleg modulációjának kezdete közötti intervallum), és a hatástartamot (egyszeri *in vitro* vagy *in vivo* alkalmazásnál a moduláció kezdete és befejezése közt eltelő idő).

A *hatásidő* nagymértékben függ az adott populáció P-Q állapotától. Ciklizáló sejtek gyorsabban stimulálhatók és gátolhatók, a Q-sejtek indukálhatósága pedig a nyugalmi fázis „mélységétől" [8] függ.

Néhány példa: EP bevitelkor csontvelő kultúrákban két óra, fetális májsejtekben 20 perc elteltével emelkedni kezd a DNS polimeráz aktivitása és a ^{3}H-timidin beépülése; utóbbi rendszerben a hemoglobin szint már a 90. percben fokozódik [119]. Szteroidok *in vitro* thymus sejtekre az alábbi időrendben hatnak: néhány perc alatt végbemegy a kortizol és a citoszol-receptor kapcsolódása; a C-R komplex gyorsan transzlokálódik a magba, ahol az 5. percben mRNS szintetizálódik. 15—20 perc múlva kimutatható a fehérjeszintézis és glukóz-anyagcsere csökkenése. A 40. percben a fehérje-blokk teljessé válik és hamarosan megkezdődik a thymociták lízise [115]. Nyugvó sejtek hosszabb preszintetikus időtartamot igényelnek a stimulációt követő DNS szintézishez és osztódáshoz. EGF bevitelekor pl. konfluens humán fibroblasztok a 12. órában lépnek S fázisba és a 24. órában érik el a DNS szintézis maximumát [47]. PHA-val stimulált limfociták preszintetikus fázisa 16—20 óra [131].

A protorok *hatástartama* nagy változatosságot mutat és erősen függ a kísérleti körülményektől. Egyes inhibitorok *in vitro* mindössze 1—2 óráig őrzik meg aktivitásukat (pl. a JB-1 ascites gátlófaktora [24]), a granuloid GI-3 5—6 [15], a limfoid T_4-1 $>$12 órán át hatékony [13]. *In vivo* 12 óránként ismételt i.p. epidermális chalon adagolással a hámszövet DNS szintézise folyamatosan szupresszálható és ezzel a módszerrel megelőzhető a Tween 60-nal indukálható epidermális hiperplázia [140].

A pleiotipikus reakciót [93] kiváltó stimulátorok hosszú ideig hatékonyak, pl. a PHA kezelés $>$72 óráig, a limfocitákkal történt $<$10′ kontaktus

után [131]. Egyes növekedési faktorok, pl. EGF viszont > 6 órán át tartó kontaktust igényelnek a DNS szintézis stimulációjához [47], és hatástartamuk rövidebb.

A protorok hatástartamát számos tényező befolyásolja: antagonista faktorok, szérum, lizoszómás tevékenység, enzimatikus inaktiválódás stb. [12, 47, 86, 98].

A szignál mediációja: ciklikus nukleotidák

A nyugvó sejtek stimulációjának néhány fontosabb következménye az új fehérje, RNS és DNS szintézise [18, 131], poliaminok felhalmozódása, transzportjának fokozódása, az ornitin-dekarboxiláz aktivitás emelkedése [64]. Kérdés, hogy az ezekhez szükséges génaktiválódás és a L-R kötődés között milyen mechanizmus végzi a mediációt. A legsokoldalúbban a GF-ek, katekolaminok és peptidhormonok mitogén (vagy mitodepreszszív) hatását elemezték, melyet a ciklikus nukleotidák közvetítenek [2, 4, 78, 79, 100, 139, 144, 189]. Az alapfolyamat a következő: a membránreceptor a hozzá asszociálódott protorral az adenilcikláz (aCy) fehérjerészéhez kötődik, modulálva ezzel a membrán belső felületén elhelyezkedő alegységet. Az aCy az ATP → cAMP + PP reakciót katalizálja. A cAMP aktiválja a cAMP-szenzitív protein-kinázt, amely egy regulátor (R) és katalitikus (C) alegységből tevődik össze. Nyugalmi állapotban R gátolja C-t; az aktiválódás az alábbi reakcióegyenlet szerint megy végbe:

$$RC + cAMP \rightarrow RcAMP + C$$

A C-alegység regulátor fehérjék foszforilációját katalizálja, azáltal, hogy az ATP terminális foszfát csoportját azok aminosavainak (főként Ser és Thr) szabad hidroxil-csoportjaihoz kapcsolja. A foszforiláció konformáció-változást hoz létre a génaktiválódást szabályozó kromoszomális fehérjékben [79, 189].

Néhány tény, amely a sejtproliferáció és az intracelluláris cAMP szint korrelációját bizonyítja: *(a)* nem-specifikus antigének, pl. PHA vagy ConA csökkentik az intracelluláris cAMP koncentrációját; *(b)* SV40-transzformált fibroblasztokban és malignus limfomákban alacsony az intracelluláris cAMP szint; *(c)* egér epidermis diurnális ciklusában a mitotikus maximum a cAMP minimummal esik egybe és megfordítva; *(d)* konfluens kultúrák magas cAMP szintjét friss médium hozzáadása csökkenti; *(e)* tenyésztett sejtek kettőződési ideje arányos intracelluláris cAMP koncentrációjukkal [2, 79, 100, 144]. E tényekkel egybevág, hogy a foszfodieszteráz stimulálja, a teofillin és koffein (az enzim inhibitorai) gátolják a DNS szintézist és mitózist [2, 100].

A néhány évvel ezelőtti általánosítást a sejtszaporodás és alacsony cAMP szint korrelációjára újabb kísérleti adatok megkérdőjelezték. Az MSA és EGF pl. a bazális intracelluláris cAMP szintet nem módosítja, de gátolja a PGE_1 által kiváltható cAMP szint emelkedését és az aCy aktivitás fokozódását [4]. Más esetekben nem találtak párhuzamot a cAMP szint és proliferációs állapot között [2, 144]. Bizonyos sejttípusokban pedig a magas dózisokkal végzett (10^{-5}—10^{-3} M) exogén db-cAMP kezelés nem gátolta, hanem stimulálta a DNS szintézist [139].

Számos, bár ugyancsak nem egyértelmű adat támasztja alá a guanilcikláz (gCy)—cGMP rendszer részvételét a protor-hatás mediációjában [2, 78,

79, 130]. PHA stimuláció következményeképp 20 perc alatt sokszorosára nő az intracelluláris cGMP szint. Exogén cGMP a proliferációt serkenti. FGF emeli a gCy aktivitását. Kontakt gátolt sejtek $PGF_{2\alpha}$-val történt stimulációja a cGMP/cAMP hányados növekedéséhez vezet. Általánosságban azt mondhatjuk, hogy a cGMP a proliferáció pozitív, a cAMP annak negatív szignálja. A szabály alól sejttípusonként szép számú kivétel ismeretes [79, 139, 189].

Korábban élesen szétválasztották a peptid hormonok, katekolaminok és GF-ek aCy—cAMP (ill. gCy—cGMP) rendszeren át történő mediációját és a szteroid hormonok már említett citoszol-receptor → transzlokáció → akceptor mechanizmusát. Ennek ellenére már évekkel ezelőtt felhívták a figyelmet [127] a cAMP és szteroidok közötti hasonlóságokra: *(a)* mindkettőt peptidhormonok szabályozzák, *(b)* molekuláik hasonlóan kompakt geometrikus struktúrájúak, *(c)* egyaránt nem-kovalens kötéssel kapcsolódnak target sejtjeik fehérje-receptoraihoz és *(d)* mindkét receptor-komplex a citoplazmából a magba transzlokálódik. A két mechanizmus hasonlóságát patkány emlőrák szabályozásánál demonstrálták [52]. Ezt a hormon-dependens daganatot az ösztrogén stimulálja, a cAMP gátolja: antagonisztikus hatásuk targetjei a kromoszomális fehérjék, amelyeket specifikus módon foszforilálnak: a szteroid-aktiválást a cAMP independens-, a peptidhormonét a cAMP dependens proteinkináz közvetíti.

A nukleáris fehérjék, foszforiláció, metilezés és acetiláció génaktivációs funkciója. Transzlációs hatás

Differenciált eukariótákban a genom 90 %-a represszált állapotban van, szabályozásukat a DNS-hez asszociált hisztonok és savas fehérjék végzik. Az expresszivitás finom beszabályozása elsősorban utóbbiak feladata; a *hisztonok* közül csupán az F_1 frakció mutat bizonyos párhuzamot a sejtek $P \rightleftharpoons Q$ állapotával. A negatív töltésű *nem-hiszton fehérjék* [18, 111, 181] specifitását kromatin-rekonstitúciós kísérletekkel igazolták [77]. A technika finomodásával gyűlnek azok az adatok, amelyek a savas fehérjék módosulását határozzák meg egy-egy protor alkalmazásakor. Uterus sejtekben 17 β-ösztradiol bevitelére egy 31 000 molsúlyú, PHA stimulációra limfocitákban a BA, Bv, C25, CS és CT, fibroblasztok SV 40-nel történő vírustranszformációjánál a P5a savas fehérje mennyisége változik szignifikánsan [111, 181].

A nukleáris fehérjék *aktiválása* a protein-kináz által katalizált *foszforilálás* [33, 52, 111] mellett azok *acetilálásával* és *metilezésével* [184, 193] történik. Ezek a kovalens módosulások rendszerint megelőzik a transzkripciót, esetenként a transzlációt. Protor-hatásokon kívül pl. részleges májirtásnál vagy a karcinogenezisben is fellépnek [50].

A *génaktiváció* lehetséges mechanizmusa Stein és mtsai [181] szerint a következő; egy specifikus savas fehérje a DNS egy ugyancsak fajlagos, hiszton által represszált szekvenciájához kötődik. Foszforilálás útján negatív töltése megnő, ezáltal eltávolodik az ugyancsak negatív DNS-szekvenciától. Erősen asszociálódik a pozitív töltésű hiszton molekulával és a komplex által derepresszált szakaszon megkezdődik a transzkripció. Paul [161] és Baserga [18] elképzeléseivel kiegészítve a génaktiválás, mint specifikus savas fehérje által szabályozott folyamat jól értelmezhető. A savas fehérjék a citoplazmában

szintetizálódnak, és — mint már említettük — *transzlációs* szabályozás alatt állnak; a korai G_1-ben Aktinomicin D-vel nem blokkolhatók [18, 181]. Ugyanott tértünk ki a transzláció iniciálásának lehetséges mechanizmusára is.

Normál és daganatos proliferáció

A vonatkozó kísérletes adatok egy része ugyan már 1—2 évtizede ismeretes, mégis az onkológusok körében csak napjainkban általánosul az a felismerés, hogy a protorok a daganatok biológiájának alapvető tényezői. A kapcsolat kettős: *(a)* a karcinogenezisben meghatározó jelentőségű a stimulátorok túlsúlya, vagy inhibitorok hiánya [25, 38, 51, 174] és *(b)* a daganatos proliferáció endogén inhibitorokkal vagy differenciálódási induktorokkal visszaszorítható [12, 15, 24, 39, 113, 174].

Elméleti és metodológiai okok egyaránt közrejátszottak a fejlődés retardációjában. A tumorok féktelen transzformációs és metasztatizáló kapacitása miatt sokáig úgy gondolták [169], hiányzik öngátlásuk (self-inhibition) és nem reaktívak a normál sejtszaporodás regulátoraira. Később tisztázták [43, 103], hogy számos daganatnál érvényesül az ún. *specifikus homológ gátlás*, pl. *(a)* transzplantábilis hepatomák az 1—4. generációban fokozott RNS és DNS szintézissel reagálnak részleges májírtásra; *(b)* a szolid tumorok többsége nem exponenciálisan, hanem a Gompertz-formula szerint növekszik; *(c)* sebészeti vagy lézeres beavatkozások után rekurrens növekedés lép fel; *(d)* hormon-dependens tumorok egy ideig reaktív fázisban maradnak, mások hosszú időn át stagnálnak; *(e)* bár kisszámú, de jól dokumentált spontán regresszió esetei váltak ismertté és *(f)* sejthibridekben a normál, szabályozott sejt elnyomja a malignus partner tulajdonságait.

A protorok funkcionális jelentőségét érthetővé teszi, hogy ma a szerzők többsége az onkogenezist a sejtproliferáció és differenciálódás korrelatív zavarának tekinti [46, 66, 103, 120, 175, 183], függetlenül attól, hogy a szomatikus mutációt virális, radiációs, vagy kémiai karcinogén indukálta.

Protorok és karcinogenezis

A tumorok többsége, >80 %-a fiziológiásan regenerálódó szövetekből ered, a statikus populációk daganatai viszont ritkák [153]. A karcinogenezis és fokozott sejtszaporodás közt korreláció áll fenn [50], bár nem ritkák a kivételek, pl. gyakoriak az alacsony turnoverű tracheobronchiális hám daganatai. A prekancerózus állapotot hiperregeneráció, hiperplázia, a proliferációs pool növekedése jellemzi.

Az onkogenezis sejtbiológiailag a következő főbb szakaszokra bontható:

1. A kémiai- és vírusindukált karcinogenezis első fázisát a DNS szintézis és mitózis *depressziója* jellemzi [103], amely limfoid szervekben néhány, bőrhámban kb. 10 óra. Nem feltétlenül az onkogenezissel függ össze, mert megfigyelték nem karcinogén szénhidrogén, pl. a perilén alkalmazása után is. Ezt az átmeneti paradox fázist egy sor egyéb károsodás: a mitokondriumok degenerációja, a glikolízis fokozódása és sejtnekrózis kíséri.

2. A második fázist, amely a karcinogén alkalmazása utáni 2—4. napon lép fel, a *proliferáció fokozódása* jellemzi. Szaporodik az atípusos mitózisok

és poliploid sejtek száma, megnő a t_G heterogenitása. A hiperplázis szakasz jól befolyásolható epigenetikus tényezőkkel és nem szükségszerűen követi malignizáció.

3. A harmadik fázis, a szűkebb értelmű onkogenezis (*malignus transzformáció*) valószínűleg szomatikus mutáció következménye. Ez a genetikai változás azonban nem kromoszóma mutáció. A humán krónikus leukémiák egy típusa ugyan a 22. (Philadelphia) kromoszóma elváltozásával jár együtt, ez azonban nemcsak a granuloid, hanem a patológiás elváltozást nem mutató erythroid és megakariocitoid sejtekre is jellemző. Egyes szerzők az onkogenezist csupán a génexpresszivitás tartós módosulásának tekintik. A protovírus-elmélet [cit: 12] szerint normál sejtekben nincs neoplasztikusan transzformálható gén, ellenben az oncornavírus virion olyan RNS-dependens DNS polimerázt tartalmaz, amely más enzimekkel együtt lehetővé teszi a virális RNS intermedier DNS-en történő replikációját; utóbbi „daganat gén"-ként integrálódhat a normál sejtek genomjával.

A karcinogenezis 3. szakaszát az aneuploidia és invázív képesség is jellemzi.

A karcinogenezis, azok promoterei és a protorok kapcsolatára néhány érdekes kísérleti eredmény utal. Egyes tumorok keletkezését pl. *stimulátor túlsúlyra* vezetik vissza, így a petefészek daganatait az OGF hiperprodukciójára [86], az emlőkarcinomáét az ösztrogén fokozott szekréciójára [52]. A klinikai gyakorlat [66] ezek eliminációjára törekszik, amikor a hormondependens tumorokat a megfelelő endokrin szerv exstirpációjával, vagy paradox hormonkezeléssel igyekszik felszámolni.

Kultúrában a normál sejtek monolayerben a telítési sűrűségnél arretálódnak és csak szérum vagy növekedési faktorok hatására szaporodnak tovább. Transzformált sejtek viszont elvesztették GF igényüket [1, 36, 51], azok exogén stimulátorok nélkül is — több rétegben — tovább nőnek.

Az adatok másik csoportja arra utal, hogy a daganatos proliferáció okozatilag *inhibitorok hiányával*, vagy azok *inaktiválódásával* függ össze. Már régebb óta ismeretes, hogy a kémiai karcinogének, ill. promotereik meghatározott nukleáris, vagy citoplazmatikus komponensekhez kötődnek. Eleinte az ún. H-proteineket tartották a recipiens molekuláknak, amelyeket extrahálva, valóban reverzibilisen gátolták a szövetkultúrák szaporodását. A pontosabb analízisnél azonban a máj-arginázzal azonosították, amely a sejtek proliferációját aspecifikusan gátolja. Bishai és mtsai [25] ^{14}C-vel jelölt dimetilbenzantracénnel kezelték az epidermist és kimutatták, hogy a karcinogén erős kovalens kötést létesített a hámszövet 70—80 %-os etanollal precipitálható komponensével, vagyis azzal a frakcióval, amely az epidermális chalont tartalmazza. Mások [cit: 98] metilkolantrén egyszeri dózisával kezelték hr/hr egerek bőrét, majd különböző időpontokban extrahálták belőlük a G_2-epidermális chalont. A 24—48. óra közt a chalon-tartalom minimumra csökkent és csak a 4. nap után kezdett emelkedni és állt vissza a mitodepresszív aktivitás. Más kémiai karcinogének (DMAAB és 3-MCA) bevitelekor kimutatták, hogy azok a kortizolével azonos citoszol-receptorhoz kötődnek, amelyekről feltételezhető, hogy transzlációs represszorként is működhetnek. Kidolgozták a karcinogenezis helyi inhibitor-deficiencia elméletét. Feltételezik, hogy onkogenezis akkor lép fel, amikor SFI (spindle-formation inducer) géneket az SFR (spindle-formation repressor) molekulák, alacsony koncentrációjuk miatt nem gátolják.

Magunk a közelmúltban fejtettük ki az AS és HS gének meghibásodására alapozott onkogenezis-elméletünket [12].

A daganatsejt reaktivitása endogén inhibitorokra

Amikor Rose [169] elméletét a kísérletes tények megrendítették, feltételezték [103], hogy a *transzplantábilis* állati daganatok reagálnak ugyan a normál szabályozókra, de a protorok a *spontán* emberi tumorokra hatástalanok. Az utóbbi évtizedben ez a fenntartás is alaptalannak bizonyult.

In vitro rendszereken sorra bizonyították a szelektív endogén inhibitorok ^{3}H-timidin beépülését, MI-t vagy sejtszámot csökkentő hatékonyságát. Többek közt patkány kloroleukémia, L5178 egér limfoma, V×2 nyúl epidermális tumor, egér és hörcsög amelanotikus melanomája, patkány szarkoma és JB-1 ascites szerepeltek target sejtekként [14, 24, 30, 39, 146, 173]. Magunk a Gál és mtsai [72] által kialakított sAML-ás és sALL-ás patkányanyagon bizonyítottuk a szelektív mieloid (GCE, GI-2, GI-3) és limfoid (T_4-1) inhibitorok dózisfüggő gátlóhatását. A leukémiás lép, thymus és csontvelősejtek szenzitivitása kifejezettebb volt, utóbbi rendszeresen alkalmazott parallel bioesszé esetében pl. $\mu = 0{,}56$ faktorral [12, 15]. Transzformált melanoma sejteket a melanocita kontakt inhibitorával (MCIF), egy 160 000 molsúlyú glikoproteinnel sikerült Q-fázisba kényszeríteni [113].

In vivo állatkísérletekben — bár a rendelkezésre álló kis protor mennyiségek korlátokat szabnak a széleskörű vizsgálatoknak — ugyancsak bizonyítást nyert a transzplantábilis daganatok kezelhetősége. A sejtszaporodás gátlását, esetenként teljes regressziót értek el endogén inhibitor preparátumokkal nyúl V×2 és hörcsög karcinomán, egér Harding-Passey melanomán, patkány kloromán, Erlich, ili. JB-1 ascites tumorokon, AKR egér leukémián [24, 39, 146, 173, a kísérletek részletes ismertetését l.: 12].

Endogén inhibitorokkal *humán anyagon* végzett megbízható kísérletekről elsőként 1976-ban Rytömaa és mtsai [174] számoltak be. A Weddel Pharmaceuticals (London) által készített „Myelostat"-al, egy részlegesen tisztított granuloid kivonattal 5 akut és 2 krónikus mieloid leukémiás pácienst kezeltek. 4—5 napon át alkalmazott intravénás adagolással a mieloid prekurzorok gátlását, a leukémiák regresszióját és egy esetben teljes remisszióját érték el. Szemben az exogén citosztatikumokkal, az endogén inhibitor a nemmieloid sejteket nem károsította, sőt fokozott eritro-megakario-citopoiezist és immunstimulációt eredményezett. Magasabb dózisok pirogén reakcóit váltották ki, amely azonban tisztább preparátummal kiküszöbölhető. Rytömaa és mtsai vizsgálatainak terápiás értéke nincs, de meggyőzően bizonyítják az endogén inhibitorok leukémiás betegekre gyakorolt biológiai hatékányságát. Továbblépés a protor szekvencia analízise és szintézise után [15, 160, 174] várható.

A protorok kemoterápiás és gyógyszeripari alkalmazása

Az előző fejezetekben bemutattuk, hogy a protor-kutatás kiindulópontjai tisztán teoretikus elképzelések, s hogy a szakterület *alapkutatásokban* gyökeredzik. Ugyanakkor nyilvánvaló, hogy az ilyenirányú orvosbiológiai vizsgálatok kardinális *alkalmazott kutatásokba* torkollnak és a klinikai gyakorlat számára elvileg új utakat nyitnak meg. A protorok gyógyszeripari és

klinikai felhasználhatóságának kulcskérdése, hogy olyan homogenitásig tisztított, lehetőleg kis vagy közepes molekulanagyságú hatóanyagokhoz jussunk, amelyek szintetizálhatók és így elegendő mennyiségben állnak rendelkezésre krónikus *in vivo* kísérlethez is.

A hatóanyagok kémiai tisztításának módszerei

A proliferáció endogén szabályozóinak purifikációja nem igényel új kémiai módszereket. Ugyanazokat az extrakciós, gélkromatográfiás, Amicon molekulaszűrési, elektroforetikus, izotachoforézises stb. eljárásokat alkalmazzuk, amelyek egyéb biogén molekulák: hormonok, prosztaglandinok, neurotranszmitterek esetében már sikerre vezettek. Ezekkel a metódusokkal sikerült izolálni a protorok első, szerkezetileg már megismert csoportját, a a növekedési faktorokat: EGF-et [48, 55], NGF-et [34], TP-t [81, 82] stb. Már rámutattunk arra, hogy a protorok kémiai tisztításában bizonyos inkongruencia alakult ki: jelentős haladás a stimulátorok és elmaradás az inhibitorok vonatkozásában. A különbség egyik fő oka kétségkívül az alkalmazott tesztrendszerek és regisztrációs módszerek adekvátságában, ill. pontatlanságában kereshető. Ezért röviden áttekintjük a protorok vizsgálati modelljeit:

1. A sejtek proliferációját *in vivo* (a) az embrionális és posztembrionális növekedés nyomonkövetésével, ill. (b) a regeneráció és sebgyógyulás vizsgálatával elemezhetjük.

2. Az *in vitro* rendszerek többnyire (a) spontán, a *lag* és *log* fázisban szaporodó kultúrák, vagy (b) konfluenciában, G_0-ban, vagy R_3-ban nyugvó kultúrák, amelyeket szérummal, lektinekkel GF-ekkel vagy hormonokkal stimulálunk.

3. Az *in vivo—in vitro* kevert, átmeneti formája a diffúziós kamrában [22, 105] végzett proliferáció-vizsgálat.

A sejtszaporodás serkentésének vagy gátlásának *regisztrálására* felhasználhatjuk (a) súly- és térfogatmérést szervek és szövetek növekedésénél, (b) a MI vagy stathmokinetikus index meghatározását, (c) a ^{3}H-timidin savoldhatatlan DNS-be épülésének mérését, (d) a populációk DNS tartalmának és megoszlásának regisztrálását Feuelgen- vagy fluorescensz festést követő citofotometriával, vagy flow-mikrofluorimetriával, (e) az S fázisban levő sejtek arányának megállapításával, (f) liquid kultúrák sejtszámmeghatározásával és (g) semisolid gélben tenyésztett sejtek kolóniaszám-meghatározásával [12, 117, 120, 158, 194].

Egyetlen regisztrálási módszer csak nehézkesen, vagy éppen félrevezetően jelzi a proliferáció mértékét. Az egyik leggyakoribb buktató pl. a ^{3}H-timidin beépülés kizárólagos vizsgálata [63, 98, 142], a módszer számos hibaforrása miatt. A MI, sejt-, vagy kolóniaszám meghatározásával kiegészítve [11, 143, 142] azonban megbízhatóan jelzi a sejtszaporodás modulációját.

A protorok kémiai tisztításában és klinikai alkalmazhatóságában lényeges előny, hogy azok *faj-aspecifikusak*. Filogenetikusan széles skálán azonos molekulák, így az egér epidermális sejtosztódásait egérből, patkányból, tőkehalból, denevérből és emberi bőrből készített chalon-preparátumok egyaránt gátolják [39, 98]. Saját tapasztalataink szerint [12, 14] patkány csontvelő mieloid elemei reaktívak defibrinált borjúvérből, patkány peritoneális exudátumból, lóvérből, borjúlépből és humán donorok véréből izolált granuloid inhibitorokra is.

Szelektivitásuk (sejt-specifitás) és fiziológiás arretatív képességük az a két alapvető paraméter, ami remélni engedi, hogy az endogén inhibitorok elvileg új utat nyitnak a daganatok gyógyszeres kezelésében. Várható, hogy 10—15 éven belül az egyes leírt sejttípusok preparátumai szintetikus formában, nagyobb mennyiségben fognak a klinikum rendelkezésére állni.

Direkt kemoterápiás szerként való alkalmazásuknak elméleti alapjait ma még hiányosan ismerjük.

Bizonyos, hogy primer hatásukat a sejtek generációs idejének, azon belül is a t_{G1} és t_{G2}-nek megnyújtása révén fejtik ki [98, 159]. Ezáltal lelassul a daganatsejtek produkciós rátája és relatíve megnő a degradáció sebessége [173]. Utóbbit feltehetően az is elősegíti, hogy egysejtűeken szerzett tapasztalatok szerint a szaporodás tartós gátlása diszharmonikus növekedéshez és kis viabilitású óriásformák kialakulásához vezet [163]. Emlősökön is bizonyították a diszharmonizáló molekuláris arányokat: a DNS szintézis blokkja ellenére a fehérje, RNS és foszfolipidek szintézise tovább folyik [18]. Mindez a daganatos sejttömeg erőteljes csökkenéséhez vezet, amit a felerősödő szervezeti védekező-reakciók tesznek teljessé.

Az *immunitás* és *fagocitotikus aktivitás* fokozására számos lehetőség van. Ehelyütt csak a *kininek* és *tuftsin* alkalmazását említjük. A tuftsin a granulociták és makrofágok fagocitotikus aktivitásának fokozásával hozzájárul a tumorsejtek eliminálásához. Hasonló hatású kemotaktikus peptideket már nálunk, a SOTE I. Biokémiai Intézetében is szintetizáltak, pl. a formil-Met-Leu-Phe neutrofilekre ható tripeptidet, és az Ala-Gly-Ser-Glu tetrapeptidet (Antoni F., személyes közlés).

Az endogén inhibitoroknak a direkt kemoterápia mellett számos egyéb alkalmazási lehetőségét demonstrálták. Így pl. egyes elméletek szerint a karcinogének fő targetjei az *őssejtek* [119]. Genomjaikat óvni kell a mutációktól, amelyek elsősorban replikációnál következhetnek be. Ha stem-inhibitorral [135, 198] prolongáljuk a G_0 fázist, illetve növeljük az ott arretálódott őssejtek számát, a karcinogenezis prevencióját segítjük elő.

A gátló protorok a *citosztatikus kemoterápia segédeszközei*, hatékonyságának növelői, mégpedig kétféle módon is. Fázisspecifikus, elsősorban G_1 támadáspontú inhibitorokkal a daganatsejtek *szinkronizálhatók*. Amikor a gátlás megszűnik és a sejtek megkezdik a replikációt, nagyobb dózisú, S-specifikus citosztatikumokkal támadhatók, amelyek így a protor előkezelés hatására a daganatos populáció nagyobb hányadát érintik [98, 173]. A másik eljárás a protorok, pl. hormon-dependens daganatoknál hormonok kapcsolása citosztatikumokkal. A *protor + citosztatikum komplex* ilyen módon növeli a kemoterápia szelektivitását. Ez az elve az MTA Peptidkémiai Kutatócsoportja és a SOTE I. Kórbonctani Intézetében folyó újszerű kísérleteknek [120], ahol az α-MHS és citosztatikum kapcsolásával értek el figyelemreméltó eredményeket.

Kimutatták, hogy a különböző endogén gátlófaktorok hatása egymással, vagy exogén szerekkel (pl. hormon + citosztatikum) addicionálódhat. A *szinergizmus* felhasználásával ugyancsak fokozható a kemoterápia hatékonysága. Magunk [13] a limfoid eredetű T_4—1 endogén inhibitor és a hidrokortizon additív hatását tapasztaltuk thymocitákon. Ilyen elv alapján csökkenteni lehet a hormon-túladagolás kockázatait.

Végül: az endogén inhibitorok szelektivitása a daganatok *differenciáldiagnózisában* is értékesíthető. Ilymódon tudták elkülöníteni pl. az epidermális- ill. adenokarcinomák egy-egy nehezen felismerhető típusát [116]. Magunk humán AML és ALL *in vito* vizsgálatakor tapasztaltuk, hogy a mucoid ill. limfoid endogén inhibitorok alkalmasak a morfológiailag nehezen felismerhető leukémiák elkülönítésre is [12].

A proliferációs stimulátorok gyakorlati alkalmazása

A pozitív szabályozók felhasználásában jelenleg két adaptációs lehetőség megalapozott: a regeneráció és sebgyógyulás serkentése, továbbá a fiatal sejtes daganatok differenciálódásának előmozdítása.

A *reparatív* folyamatok felgyorsításában a FGF, PDGF és EGF alkalmazhatósága látszik valószínűnek [5, 55, 86]. Kézenfekvő pl., hogy a keringéssel gyakorlatilag az organizmus bármely részére eljutó trombociták hatóanyaga, a PDGF fiziológiás körülmények közt is elősegíti a sebgyógyulást [92]. Az agyból izolált FGF-t a mielin egy 170 aminosavból összetett fehérjéjével azonosították. Feltételezik, hogy az a neuronok károsodása és a proteolízis során a sebgyógyulás és mielin-reparáció fiziológiás stimulusa, mindenekelőtt az asztrociták, oligodendroglia és vaszkuláris hámsejtek regenerációjában [85]. Az EGF [47, 48] ugyancsak markáns stimulátor, a sebgyógyulásnál éppen hám- és kötőszövetet stimuláló tulajdonsága hat előnyösen. A növekedési faktorok gyakorlati alkalmazásában mégis óvatosságra int, hogy mellékhatásaik csak részben tisztázottak. Az EGF-ről például az utóbbi években derült ki [47, 94], hogy szerkezetileg és funkcionálisan hasonló az urogasztronhoz, a gyomor antiszekréciós hormonjához, amelyet emberi vizeletből izoláltak. Mindkét polipeptid 53 aminosavból áll, ebből 37 közös, és 3 diszulfid híd köti össze őket.

A *differenciálódás induktorai* közül a CSF [42, 88], a TP [81, 82] és rokonhatású vegyületeinek [26, 35] gyakorlati felhasználása valószínűsíthető. Kimutatták, hogy a makrofág-granulocita induktor (MGI) nemcsak a normál, de a D^+ leukémiás mieloid sejtek egy részét is differenciálódásra kényszeríti [175]. A jelenség rendkívül érdekes, számos differenciálódási paramétert (C3 és Fc rozetták, C3 és Fc immunfagocitózis, lizozim-szintézis és -fagocitózis stb.) megvizsgáltak. Kiderült, hogy a markerek egy részét már ismert molekulákkal: lektinekkel, dimetilszulfoxiddal, szteroidokkal, lipopoliszacharidákkal, cAra-val, 5BudR-val, karcinogénekkel is indukálni lehet, valamennyit együttesen azonban csak az MGI-vel. A terápiás lehetőségek több változatát említik [145, 175]: az MGI direkt bevitelét, MGI termelő sejtek infúzióját és az MGI produkció *in vivo* stimulálását.

A protorok gyógyszeripari szintézise

Az endogén inhibitorok közül eddig csak a mieloid gátlófaktort tisztították homogenitásig [15, 160, 174]. Több más sejttípus 2 000 daltonnál alacsonyabb molsúlyú inhibitora is közel áll a teljes purifikációhoz, szerkezetfelderítéshez és szintézishez. Így a B-limfocita eredetű JB-1 ascites sejteké [24], a T-limfocitáké [141], az emlőmirigy sejteké [83], a hepatocitáké [178] és melanoma-sejteké [146]. Nyilvánvalóan bonyolultabb és hosszadalmasabb, de igéretes a nagyobb molekulák tisztítása is; elég arra utalnunk, hogy a

49 tagszámú TP biológiai hatását annak pentapeptid fragmense is kiváltja [82]. Bizonyosra vehető, hogy az eddig előállított szintetikus protorok száma [20, 82, 151, 162, 184, 190, 193] a közeljövőben ugrásszerűen növekedni fog.

Mindez bizonyítéka annak, hogy olyan bonyolult folyamatok, mint a karcinogenezis, daganatterápia, regeneráció és sebgyógyulás természettudományos, molekuláris eszközökkel a korábbinál sokkal mélyebben érthetővé és irányíthatóvá válnak.

Összefoglalás

A sejtproliferáció molekuláris szabályozói (protorok) kémiai izolálásának és sejtbiológiai hatásmechanizmusának újabb adatait összegezzük. Növekedési faktorok, chalonok, retin, promin, intracelluláris represszorok egyaránt modulálják a sejtek szaporodását. A hatóanyagok többsége fehérje vagy peptid természetű. Az áttekintés részletezi a sejtciklus fázisaira kiterjedt hatásukat, lehetséges receptoraikat, szubcelluláris támadáspontjukat, sejten belüli mediációjukat és az autoszintetikus regulátor gének expresszivitásának módosulásait. A pozitív és negatív protorok a karcinogenezis mechanizmusában és a daganatok kemoterápiájában fontos faktorok; lehetséges gyógyszeripari alkalmazásukat is tárgyaljuk.

IRODALOM

1. Abercrombie, M. (1979) Contact inhibition and malignancy. *Nature*, **281**, 259—261.
2. Abou-Sabé, M. (1976) *Cyclic nucleotides and the regulation of cell growth.* Dowden, Hutchinson, Ross. Inc., Stroudsburg
3. Allen, J. C., Smith, C. J., Curry, M. C. and Gaugas, J. M. (1977) Identification of a thymic inhibitor („chalone") of lymphocyte transformation as a spermine complex *Nature*, **267**, 623—625.
4. Anderson, W. B., Wilson, J., Rechler, M. M. and Nissley, S. P. (1979) Effect of multiplication stimulating activity (MSA) on intracellular cAMP levels and adenylate cyclase activity in chick embryo fibroblasts. *Exp. Cell. Res.*, **120**, 47—53.
5. Antoniades, H. N., Scher, C.D. and Stiles, C. (1979) Purification of human platelet-derived growth factor. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, **76**, 1809—1813.
6. Armelin, H. A. and Armelin, C. S. (1978) Resting-proliferative transition in cultured mammalian cells. *Nat. Cancer Inst. Monogr.*, **48**, 81—85.
7. Attalah, A. M. and Houck, J. C. (1977) Tentative mechanism of lymphocyte chalone action. *Exp. Cell. Res.*, **105**, 137—141.
8. Augenlicht, L. H. and Baserga, R. (1974) Changes in the G_0 state of WI—38 fibroblast different times after confluence. *Exp. Cell. Res.*, **89**, 255—262.
9. Balázs, A. (1976) Acute effect of endogenous inhibitors and exogenous cytostatics on the ultrastructure of bone marrow cells. II. Single dose of granulocyte crude extract (GCE). *Haematologia*, **10**, 445—453.
10. Balázs, A. (1978) A sejtosztódás szabályozása. *In:* Csaba Gy. (szerk.): *A biológiai szabályozás.* Medicina, Budapest. 135—151.
11. Balázs, A. and Barabás, K. (1979) Control of CFUc proliferation by selective endogenous inhibitors. *Virchows Arch. B. Cell Path.*, **31**, 125—131.
12. Balázs, A. and Blazsek, I. (1979) *Control of cell proliferation by selective endogenous inhibitors.* Elsevier—North—Holland Biomedical Press, Amsterdam—New York—Oxford és Akadémiai Kiadó, Budapest
13. Balázs, A., Farkas, A., Blazsek, L. and Klupp, T. (1978) Szérumfaktorok és proliferációs regulátorok szinergizmusa sejtkultúrákban. *Biológia*, **26**, 139—151.
14. Balázs, A. Fazekas, I., Bukulya, B., Blazsek, I. and Rappay, Gy. (1972) An intracellular factor (DCI) controlling differentiation and cell division. *Mech. Ageing Dev.*, **1**, 175—182.

15. Balázs, A., Sajgó, M., Klupp, T. and Kemény, Á. (1980) Purification of an endopeptide to homogenity and the verification of its selective inhibitory action on myeloid cell proliferation. *Cell Biol. Intern. Rep.*, **4**, 337—345.
16. Balls, M. and Billet, F. S. (eds.) (1973) *The cell cycle in development and differentiation.* University Press, Cambridge
17. Barka, T. (1973) Partial purification of a mitotic suppressor from the salivary gland. *Exptl. Mol. Pathol.*, **18**, 225—233.
18. Baserga, R. (1976) *Multiplication and division in mammalian cells.* Marcel Dekker, New York
19. Baserga, R. (1978) Resting cells and the G_1 phase of the cell cycle. *J. Cell Physiol.*, **95**, 377—386.
20. Beall, P. T., Szopa, B., Burzynski, S. R. and Hazlewood, C. F. (1979) Polipeptides that inhibit human breast cancer cell division. *Cancer Biochem. Biophys.*, **3**, 93—96.
21. Benbow, R. N., Joenje, H., Whithe, S. H., Breaux, C. B., Krauss, M. R., Ford, C. C. and Laskey, R. A. (1977) Cytoplasmic control of nuclear DNA replication in *Xenopus laevis. In:* Brinkley, B. R. and Porter, K. R. (eds.): *International cell biology.* Rockefeller Univ. Press, New York, 453—463.
22. Benestad, H. B. and Rytömaa, T. (1979) Granulocytic chalone inhibits rapidly proliferating committed murine progenitor cells. *Biomedicine*, **31**, 33—36.
23. Bertsch, S. and Marks, F. (1974) Lack of an effect of tumor-promoting phorbol esters and of epidermal G_1 chalone on DNA synthesis in the epidermis of newborn mice. *Cancer Res.*, **34**, 3283—3288.
24. Bichel, P. and Barfod, N. M. (1977) Specific chalone inhibition of the regeneration of JB—1 ascites tumour studied by flow microfluorometry. *Cell Tissue. Kinet.*, **10**, 183—193.
25. Bishai, I. S. M., Moscarello, M. A. and Ritchie, A. C. (1971) Dimethylbenzanthracene binding to to epidermal chalone. *Nature*, **232**, 114—116.
26. Blanot, D., Martinez, J., Auger, G. and Bricas, E. (1979) Synthesis of analogs of the serum thymic nonapetide, „Facteur Thymique Serique" (FTS). I. *Int. Peptide Prot. Res.*, **14**, 41—56.
27. Blazsek, I., Balázs, A., Gaál, D. and Holczinger, L. (1976) A multifactorial system controlling myeloid cell differentiation and division. *Mech. Age. Dev.*, **5**, 57—65
28. Blazsek, I. and Gaál, D. (1978) Endogenous thymic factors regulating cell proliferation and analysis of their mechanism of action. *Cell Tissue Kinet.*, **11**, 265—277.
29. Bolen, J. B. and Smith, G. L. (1977) Effects of withdrawal of a mitogenic stimulus on progression of fibroblast into S phase: differences between serum and purified multiplication-stimulating activity. *J. Cell Physiol.*, **91** 441—448.
30. Boll, I. T. M., Sterry, K. and Maurer, H. R. (1979) Evidence for a rat granulocyte chalone effect on the proliferation of normal human bone marrow and of myeloid leukemias. *Acta Haematol.*, **61**, 130—137.
31. Born, J., Tiedemann, H. and Tiedemann H. (1972) Inhibitors in amphibian morphogenesis: enzymic degradation of an inhibitor for the vegetalizing factor. *J.Embriol. Exp. Morph.*, **28**, 77—89.
32. Boyton, A. L. and Whitefield, J. F. (1976) The different actions of normal and supranormal calcium concentration on the proliferation of Balb/c 3T3 mouse cells. *In Vitro*, **12**, 479—484.
33. Bradbury, E. M., Inglis, R. J., Matthews, H. R. and Langen, T. A. (1974) Molecular basis of control mitotic cell division in eukaryotes. *Nature*, **249**, 553—555.
34. Bradshaw, R. A. (1978) Nerve growth factor. *Ann. Rev. Bichem.*, **47**, 191—216.
35. Bricas, E., Martinez, J., Blanot, D., Auger, G., Dardenne, M., Bleau, J. M. and Bach, J. F. (1977) The serum thymic factor and its synthesis. Peptides-Proc. 5th Amer. Peptide symposium
36. Brown, K. D. and Holley, R. W. (1979) Epidermal growth factor and the control of proliferation of Balb 3T3 and benzo(a)pyrene-transformed Balb 3T3 cells. *J. Cell Physiol.*, **100**, 139—146.
37. Broxmeyer, H. E., Jacobsen, N., Kurland, J., Mendelsohn, N. and Moore, M. A. S. (1978) *In vitro* suppression of normal granulocytic stem cells by inhibitory activity derived from human leukemia cells. *J. Nat. Cancer Inst.*, **60**, 497—511.
38. Brugal, G. and Pelmont, J. (1975) Existence of two chalone-like substances in intestinal extract from the adult newt, inhibiting embryonic intestinal cell proliferation. *Cell Tissue Kinet.*, **8**, 171—187.
39. Bullough, W. S. (1945) Chalone control mechanism. *Life Sci.*, **16**, 323—330.
40. Bullough, W. S. and Laurence, E. B. (1964) Mitotic control by internal secretion: the role of the chalone-adrenalon complex. *Exp. Cell Res.*, **33**, 176—194.

41. Burger, M. M. (1970) Proteolytic enzymes initiating cell division and escape from contact inhibition of growth. *Nature*, **227**, 170—171.
42. Burgess, A. W., Metcalf, D. and Russel, S. (1978) Regulation of hematopoietic differentation and proliferation by colony-stimulating factors. *In:* Clarkson, B. et al. (eds.): *Differentiation of normal and neoplastic hematopoietic cells.* Cold Spring Harbor Lab., 339—357.
43. Burns, E. R. (1969) On the failure of self-inhibition of growth in tumors. *Growth*, **33**, 25—45.
44. Burzynski, S. R., Loo, T. L., Ho, D. H., Rao, P. N. Georgiades, G. and Kratzenstein, H. (1976) Biologically active peptides in human urine. III. Inhibitors of the growth of human leukemia, osteosarcoma and Hela cells. *Physiol. Chem. Physics*, **8**, 13—22.
45. Busch, H. (1976) A general concept for molecular biology of cancer. *Cancer Res.*, **36**, 4291—4294.
46. Busch, H. (1979) The complexity of the cancer problem. *Fed. Proc.*, **38**, 94—96.
47. Carpenter, G. and Cohen, S. (1978) Human epidermal growth factor: binding of the polypeptide to human fibroblasts and stimulation of cell proliferation. *Nat. Cancer Inst. Monogr.*, **48**, 149—156.
48. Carpenter, G. and Cohen, S. (1979) Epidermal growth factor. *Ann. Rev. Biochem.*, **48**, 193—216.
49. Catt, K. J., Harwood, J. P., Aguilera, G. and Dufau, M. L. (1979) Hormonal regulation of peptide receptors and target cell responses. *Nature*, **280**, 109—110.
50. Cayma, E., Tsuda, H., Sarma, D. S. R. and Faber, E. (1978) Initiation of chemical carcinogeneses requires cell proliferation. *Nature*, **275**, 60—62.
51. Charington, P. V., Smith, B. L. and Pardee, A. B. (1979) Loss of epidermal growth factor requirement and malignant transformation. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, **76**, 3937—3941.
52. Chochung, Y. S. (1979) Interaction of cyclic AMP-binding protein and estrogen receptor in growth control. *Life Sci.*, **24**, 1231—1240.
53. Clarkson, B. and Baserga, R. (eds.) (1974) *Control of proliferation in animal cells.* Cold Spring Harbor Laboratory, New York
54. Clermont, Y. and Mauger, A. (1976) Effect of spermatogonial chalone in the growing rat testis. *Cell Tissue Kinet.*, **9**, 99—104.
55. Cohen, S. and Carpenter, G. (1975) Human epidermal growth factor; isolation and chemical and biological properties. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, **72**, 1317—1321.
56. Cone, C. D. and Tongier, M. (1973) Contact inhibition of division; involvement of the electrical transmembrane potential. *J. Cell. Physiol.*, **82**, 373—386.
57. Cooper, S. (1979) A unifying model for the G_1 period on prokaryotes and eukaryotes. *Nature*, **280**, 17—19.
58. Cristofalo, V. J. and Rosner, B. A. (1979) Modulation of cell proliferation and senescene of WI—38 cells by hydrocortisone. *Fed. Proc.*, **38**, 1851—1858.
59. Csaba, Gy. (1978) A hormonreceptorok fejlődése. *Orvosi Hetilap*, **119**, 123—130.
60. De Maertelaer, V. and Galand, P. (1975) Some properties of a G_0 model of the cell cycle. *Cell Tissue Kinet.*, **8**, 11—22.
61. De Paermentier, F., Barbason, H. and Bassleer, R. (1979) Control of differentiation and proliferation by an hepatic chalone on rat hepatoma cells cultivated *in vitro*. *Biol. Cell.*, **34**, 205—212.
62. Deysson, G. (1968) Antimitotic substances. *Intern. Rev. Cytol.*, **24**, 99—148.
63. Diatloff, C., Bengtson, A. and Maceira—Coelho, A. (1979) Inhibition of pyrimidine incroporation without inhibition of DNA synthesis. *Cell Biol. Internat. Rep.*, **3**, 283—292.
64. Dipasquale, A., White, D. and McGuire, J. (1978) Epidermal growth factor stimulates putrescine transport and ornithine decarboxylase activity in cultivated human fibroblasts. *Exp. Cell Res.*, **116**, 317—323.
65. Dulbecco, R., and Elkington, J. (1975) Induction of growth in resting fibroblastic cell cultures by Ca^{++}. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, **72**, 1584—1588.
66. Eckhardt, S. (1977) *Klinikai onkológia.* Medicina, Budapest
67. Elgjo, K. (1973) Epidermal chalone. Cell cycle specificity of two epidermal growth inhibitors. *Nat. Cancer Inst. Monogr.*, **38**, 71—76.
68. Epifanova, O. I., and Terskikh, V. V. (1969) On the resting periods in the cell life cycle. *Cell Tissue Kinet.*, **2**, 75—93.
69. Erkell, L., and Walum, E. (1979) Differentiation of cultured neuroblastoma cells by urea derivates. *FEBS Letters*, **104**, 401—404.
70. Evans, L. S., Almeida, M. S., Lynn, D. G. and Nakanishi, K. N. (1979) Chemical characterization of a hormone that promotes cell arrest in G_2 in complex tissues. *Science*, **203**, 1122—1123.

71. Folkman, J. and Moscona, A. (1978) Role of cell shape in growth control. *Nature*, **273**, 345—349.
72. Gál, F., Somfai, Zs. and Szentirmai, Z. (1973) Transplantable myeloid rat leukemia induced by 7,12-dimethylbenz(a)anthracene. *Acta Haematol.*, **49**, 281—290.
73. Garcia-Giralt, E., Diaz-Rusio, E. and Rappaport, H. (1975) Evaluation of the specificity of a lymphoid chalone. *Cell Tissue Kinet.*, **8**, 589—592.
74. Gaugas, J. M. and Dewey, D. L. (1979) Evidence for serum binding of oxidized spermine and its potent G_1-phase inhibition of cell proliferation. *Brit. J. Cancer*, **39**, 548—557.
75. Gelfant, S. (1977) A new concept of tissue and tumor cell proliferation. *Cancer Res.*, **37**, 3845—3862.
76. Gidáli, J. and Fehér, J. (1977) The effect of E type prostaglandins on the proliferation of haemopoietic stem cells *in vivo*. *Cell Tissue Kinet.*, **10**, 365—373.
77. Gilmour, R. S., and Paul, J. (1973) Tissue specific transcription of the globin gene in isolated chromatin. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, **70**, 3440—3442.
78. Giotta, G. J., Smith, J. R. and Nicolson, G. I. (1978) Guanosin-5'-triphosphate inhibits growth and stimulates differentiated function in B16 melanoma cells. *Exp. Cell Res.*, **112**, 385—393.
79. Goldberg, N. D., Hardox, M. K., Dunham, E., Lopez, C. and Hadden, J. W. (1974) The yin yang hypothesis of biological control: opposing influences of cyclic GMP and cyclic AMP in the regulation of cell proliferation and other biological processes. *In:* Clarkson, B. and Baserga, R. (eds.): *Control of proliferation in animal cell.* Cold Spring Harbor Laboratory, 609—626.
80. Goldspink, G. (ed.) (1974) *Differentiation and growth of cells in vertebrates tissues.* Chapman and Hall, London
81. Goldstein, G. (1978) Polypeptides regulating lymphocyte differentiation. *In:* Clarkson, B. et al. (ed.): *Differentiation of normal and neoplastic hematopoietic cells.* Cold Spring Harbor Laboratory, 455—465.
82. Goldstein, G., Scheid, M. P., Boyse, E. A., Schlesinger, D. H. and Wauve, J. (1979) A synthetic pentapeptide with biological activity characteristic of the thymic hormone thymopoietin. *Science*, **204**, 1309—1310.
83. Gonzalez, R. and Verly, W. (1978) Purification of an inhibitor of DNA synthesis in mammary cells. *Eur. J. Cancer*, **14**, 689—697.
84. Gospodarowicz, D., Jones, K. L. and Sato, G. (1974) Purification of a growth factor for ovarian cells from bovine pituitary glands. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, **71**, 2295—2299.
85. Gospodarowicz, D., Mescher, A. L. and Birdwell, C. R. (1978) Control of cellular proliferation by the fibroblast and epidermal growth factors. *Nat. Cancer Inst. Monogr.*, **48**, 109—130.
86. Gospodarowicz, D. and Moran, J. S. (1976) Growth factors in mammalian cell culture. *Ann. Rev. Biochem.*, **45**, 531—558.
87. Granström, M. (1974) *Studies on cell growth regulating factors in myelopoiesis.* Thesis. Stockholm
88. Guez, M. and Sachs, L. (1973) Purufication of the protein that induces cell differentiation to macrophages and granulocytes. *FEBS Letters*, **37**, 149—154
89. Gurdon, J. B. (1974) *The control of gene expression in animal development.* Harvard Univ. Press, Cambridge, Mass.
90. Harris, H. (1970) *Cell fusion.* Clarendon Press, Oxford.
91. Haskill, J. S., McKnight, R. D. and Galbraith, P. R. (1972) Cell-cell interaction *in vitro:* studied by density separation of colony forming, stimulating and inhibiting cells from human bone marrow. *Blood*, **40**, 394—399.
92. Heldin, C. H., Westermark, B. and Westeson, Á. (1979) Plated-derived growth factor: purification and partial characterization. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, **76**, 3722—3726.
93. Hersko, A., Mamont, P., Shields, R. and Tomkins, G. M. (1971) Pleiotypic response. *Nature*, **232**, 206—211.
94. Hollenberg, M. D. and Schneider, E. L. (1979) Receptors for insulin and epidermal growth factor-urogastrone in adult human fibroblasts do not change with donor age. *Mech. Age. Dev.*, **1**, 37—43.
95. Holley, R. W. (1975) Control of growth of mammalian cells in cell culture. *Nature*, **258**, 487—490.
96. Holley, R. W., Armour, R. and Baldwin, J. H. (1978) Density-dependent regulation of growth of BSC—1 cells in cell culture: growth inhibitors formed by the cells. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, **75**, 1864—1866.
97. Homma, A., Kasukabe, T. and Hozumi, M. (1978) Production of differentiation-stimulating

factor in cultured mouse myeloid leukemia cells treated by glucocorticoids. *Exp. Cell Res.*, **111,** 261—267
98. Houck, J. C. (1976) *Chalones.* North-Holland, Amsterdam—New York
99. Houck, J. C., Kanagalingam, K., Hunt, C., Attalah, A. and Chung, A. (1977) Lymphocyte and fibroblast chalones: some chemical properties. *Science*, **196,** 896—897.
100. Howard, E. F., Scott, D. F. and Manter, J. C. (1977) Cyclic nucleotide levels in mouse mammary epithelial cells during growth arrest and growth initiation in culture. *J. Nat. Cancer Inst.*, **59,** 145—149.
101. Inuzuka, M. and Helinski, D. R. (1978) Requirement of a plasmid-encoded protein for replication *in vitro* of plasmid RGK. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, **75,** 5381—5385.
102. Ishii, D. N., Fibach, E., Yamasaki, H. and Weinstein, I. B. (1978) Tumor promotors inhibit morphological differentiation in cultured neuroblastoma cells. *Science*, **200,** 556—559.
103. Iversen, O. H. (1970) Some theoretical considerations on chalones and the treatment of cancer: a rewiev. *Cancer Res.*, **30,** 1481—1484.
104. Iversen, O. H., Aandahl, E. and Elgjo, K. (1965) The effect of an epidermis-specific mitotic inhibition (chalone) extracted from epidermal cells .*Acta. Path. Microbiol. Scand.*, **64,** 506—510.
105. Jacobsen, N., Broxmeyer, H. E., Grossband, E. and Moore, A. S. (1979) Colony-forming units in diffusion chambers (CFU-d) and colony-forming units in agar culture (CFU-e) obtained from normal bone marrow: a possible parent-progeny relationship. *Cell Tissue Kinet.*, **12,** 213—226.
106. Jimenez De Asua, L., Clingam, D. and Rudland, P. S. (1975) Initiation of cell proliferation in cultured mouse fibroblasts by prostaglandin F_2. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, **72,** 2724—2728.
107. Kamely, D. and Rudland, P. S. (1976) Induction of DNA synthesis and cell division in human skin fibroblasts growth factor. *Exp. Cell Res.*, **97,** 120—126.
108. Kiger, N., Florentin, I., Lorans, G. and Mathé, G. (1977) Further purification and chemical characterization of the lymphocyte-inhibiting-factor extracted from thymus (LIFT). *Immunology*, **33,** 439—448.
109. Kihlman, B. A. (1966) *Actions of chemicals on dividing cells.* Prentice-Hall Inc. Englewood Cliffs, New Jersey
110. Kivilaakso, E. and Rytömaa, T. (1971) Erythrocytic chalone, a tissue-specific inhibitor of cell proliferation in the erythron. *Cell Tissue Kinet.*, **4,** 1—9.
114. Kleinsmith, L. J. (1975) Phosphorylation of non-histone proteins in the regulation of chromosome structure and function. *J. Cell. Physiol.*, **85,** 459—476.
112. Klupp, T., Balázs, A. and Salgó, M. (1980) Preparation of a target specific fraction controlling the proliferation of granulocytes. The abolishment of its specificity against thymocytes by glutathion. *Acta Biochem. Biophys.*, **15,** 165—172.
113. Knecht, M. E. and Lipkin, G. (1977) Bichemical studies of a protein which restores contact inhibition of growth to malignant melanocytes. *Exp. Cell Res.*, **108,** 15—22.
114. Konyshev, V. A. (1976) Chemical nature and systematization of substances regulating animal tissue growth. *Intern. Rev. Cyt.*, **47,** 195—224.
115. Kornel, L. (1973) On the effects and the machanism of action of corticosteroids in normal and neoplastic target tissues: findings and hypotheses. *Acta Endocrinol.*, **74,** Suppl. 178., 7—48.
116. Korsgaard, R., Iversen, O. H., Isaksoon-Forsen, G. and Buyton, D. R. (1978) Specificity of epidermal chalone extracts for human epidermoid tumour cells *in vitro*. *Cell Tissue Kinet.*, **11,** 441—443.
117. Kovács, P., Bruch, C. and Fliedner, T. M. (1976) Colony formation by canine hemopoietic cells *in vitro*. Inhibition by polymorphonuclear leukocytes. *Acta Haematol.*, **56,** 107—115.
118. Krizsa, F., Kelemen, E., Cserháti, I. and Lajtha, L. G. (1977) Specific thrombopoietic inhibition by syngenic platelet homogenates. *Biomedicine*, **27,** 145—148.
119. Lajtha, L. G. (1979) Stem cell concepts. *Differentiation*, **14,** 23—34.
120. Lapis, K. and Jeney, A. (eds.) (1980) *A sejtproliferáció szabályozása és befolyásolása.* Akadémiai Kiadó. Budapest
121. Larsen, B. and Heron, I. (1978) Modification of lymphocyte response to phytomitogens by polycations and polyanions. *Experientia*, **34,** 1224—1227.
122. Leblond, C. P. (1964) Classification of cell populations on the basis of their proliferative behaviour. *Nat. Cancer Inst. Monogr.*, **14,** 119—150.
123. Lee, G. T. Y. and Engelhardt, D. L. (1978) Fluctuations in the production of specific cellular peptides during the growth of animal cells. *J. Cell. Biol.*, **78,** R28—R35.
124. Lehmann, W., Araetz, H., Schütt, M. and Langen, P. (1979) Antagonistic effects if

insulin and a negative growth regulator from ascites fluid and the growth of Ehrlich ascites carcinoma cells *in vitro*. *Exp. Cell Res.*, **119**, 396—399.
125. LENFANT, M., GARCIA-GIRALT, E., THOMAS, M. and DI GUSTO, L. (1978) Purification of immunosuppressive factors extracted from bovine spleen (lymphoid chalone). *Cell Tissue Kinet.*, **11**, 455—463.
126. LEVINE, E. M., JENG, D. and CHANG, Y. (1974) Contact inhibition, polyribosomes and cell surface membranes in cultured mammalian cells. *J. Cell Physiol.*, **84**, 349—364.
127. LIAO, S. (1975) Cellular receptors and mechanism of action of steroid hormones. *Internat. Rev. Citol.*, **41**, 87—172.
128. LIEBERMANN, D. and SACHS, L. (1979) Increase of normal myeloblast viability and multiplication without blocking differentiation by type C RNA virus from myeloid leukemic cells. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, **76**, 3353—3357.
129. LINDERMANN, R. (1975) Erythropoiesis inhibiting factor(s) in intact and haemolyzed red blood cells. *Scand. J. Haematol.*, 14, 216—225.
130. LINDGREN, A. and WESTERMARK, B. (1976) Subdivision of the G_1 phase of human glia cells in culture. *Exp. Cell Res.*, **99**, 357—362.
131. LING, N. R. and KEY, J. E. (1975) *Lymphocyte stimulation*. Elsevier, Amsterdam—New York
132. LIPSICH, L. A., LUCAS, J. J. and KATES, J. R. (1978) Cell cycle dependence of the reactivation of chick erythrocyte nuclei after transplantation into mouse L929 cell cytoplasts. *J. Cell Physiol.*, **97**, 199—208.
133. LITTLE, M., PAWELETZ, N., PETZEL, C., PONSTING, H., SCHROETER, D. and ZIMMERMANN, H. P. (1977) *Mitosis: facts and questions*. Springer-Verlag, Berlin—Heidelberg—New York
134. LO BUE, J. and GORDON, A. S. (1973) *Humoral control of growth and differentiation*. Academic Press, New York
135. LORD, B. I., MORI, E. G., WRIGHT, E. G. and LAJTHA, L. G. (1976) An inhibitor of stem cell proliferation in normal bone marrow. *Brit. J. Haemat.*, **34**, 441—445.
136. LOZZIO, B. B., LOZZIO, C. B., BAMBERGER, E. G. and KIM, J. (1976) A cell homeostatic regulator isolated from mammalian spleens. *In:* BATTISTO, L. R. and STREILEIN, J. W. (eds.): *Immunoaspects of the spleen*. Elsevier—North—Holland Biomedical Press, Amsterdam
137. LYNN, D. G., NAKANISHI, K., PLATT, S. L. OCCOLOWITZ, J. L., ALMEIDA, S. and EVANS, L. S. (1978) Isolation and characterization of the first mitotic cycle hormone that regulates cell proliferation. *J. Amer. Chem. Soc.*, **100**, 7759—7760.
138. MAERTELAER, V. and GALAND, P. (1975) Some properties of a „G_0" model of the cell cycle. I. Investigation on the possible existence of natural contraints on the theoretical model in steady state conditions. *Cell Tissue Kinet.*, **8**, 11—22.
139. MARCELO, C. L. (1979) Differential effects of cAMP and cGMP on *in vitro* epidermal cell growth. *Exp. Cell Res.*, **120**, 201—210.
140. MARKS, F. (1973) A tissue-specific factor inhibiting DNA synthesis in mouse epidermis. *Nat. Cancer Inst. Monogr.*, **38**, 79—90.
141. MASCHLER, R. and MAURER, H. R. (1979) Screening for specific calf thymus inhibitors (chalones) of T-lymphocyte proliferation. *Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem.*, **360**, 735—745.
142. MAURER, H. R., HENRY, R. and MASCHLER, R. (1978) Chalone inhibition of granulocyte colony growth in agar: kinetic quantisation by capillary tube scanning. *Cell Tissue Kinet.*, **11**, 129—138.
143. MAURER, H. R., MASCHLER, R., DIETRICH, R. and GOEBEL, B. (1977) *In vitro* culture of lymphocyte colonies in agar capillary tubes after PHA-stimulation. *J. Immunol. Methods.*, **18**, 353—364.
144. MENYHÁRT, J. és MINÁROVICS, J. (1977) Ciklikus nukleotidok szerepe a sejtosztódás szabályozásában. *MTA Biol. Oszt. Közl.*, **20**, 81—109.
145. METCALF, D. (1977) *Hemopoietic colonies*. Springer-Verlag, Berlin—Heidelberg—New York
146. MOHR, U., ALTHOFF, J., KINZEL, V., SÜSS, R. and VOLM, M. (1968) Melanoma regression induced by „chalone": a new tumour inhibiting principle acting *in vivo*. *Nature*, **220**, 138—139.
147. MONARD, D., STOCKEL, K., GOODMAN, R. and THOENEN, H. (1975) Distinction between nerve growth factor and glial factor. *Nature*, **258**, 444—445.
148. MOORE, M. A. S., KURLAND, J. and BROXMEYER, H. E. (1978) Regulatory interactions in normal and leukemic myelopoiesis. *In:* CLARKSON, B. et al (eds.): *Differentiation of normal and neoplastic hematopoietic cells*. Cold Spring Harbor Lab., 393—404.
149. MOSER, G. C. and MÜLLER, H. (1979) Cell cycle dependent changes of chromosomes in mouse fibroblasts. *Eur. J. Cell Biol.*, **19**, 116—119.

150. Németh, K., Institóris, L., Somfai, S., Gál, F., Pályi, I., Sugár, J., Csuka, O., Szentirmai, Z. and Kellner, B. (1972) Pharmacologic and antitumor effects of 1.2 : 5.6-dianhydrogalactitol (NSC—132313). *Cancer Chemother. Rep.*, **56**, 593—602.
151. Nishioka, K. (1979) Anti-tumor effect of physiological tetrapeptide, tuftsin. *Brit. J. Cancer*, **3**, 217—223.
152. Nover, L. and Mothes, K. (eds.) (1977) *Cell differentiation in microorganisms, plants, and animals.* VEB Gustav Fischer Verlag, Jena
153. Oehlert, W. (1973) Cellular proliferation in carcinogenesis. *Cell Tissue Kinet.*, **6**, 325—335.
154. O'Farrel, M. K., Clingan, D., Rudland, P. S. and Jimenez De Asaua, L. (1979) Stimulation of the initiation of DNA synthesis and cell division in several cultured mouse cell types. *Exp. Cell Res.*, **118**, 311—321.
155. Okulov, V. B., Ketlinsky, E. A., Ratovitsky, E. A. and Kalinovsky, V. P. (1978) Purification and characteristics of epidermal G2 and G1 chalones. *Biochimia*, **43**, 971—978.
156. Onda, H. and Yoshikawa, J. (1975) α_1-acid glycoprotein as a hepatocyte-specific mitosis-inhibiting protein in regenerating rat liver. *Gann*, **66**, 227—236.
157. Padilla, G. M., Cameron, I. L. and Zimmerman, A. (eds.) (1974) *Cell cycle controls.* Academic Press, New York—San Francisco—London
158. Pályi, L. (1975) Survival and phase sensitivity of Hela cells treated with dianhydrogalactitol (NSC—13213). *Cancer Chemoter. Rep.*, **59**, 493—499.
159. Pardee, A. B., Dubrov, R., Hamlin, J. L. and Kletzien, R. F. (1978) Animal cell cycle. *Ann. Rev. Biochem.*, **47**, 715—750.
160. Paukovits, W. R. and Hinterberger, W. (1978) Molecular weight and some chemical properties of the granulocytic chalone. *Blut*, **37**, 7—18.
161. Paul, J. (1972) General theory of chromosome structure and gene activation in eukaryotes. *Nature*, **238**, 444—446.
162. Pickart, L. and Thaler, M. M. (1979) Growth-modulating human plasma tripeptide: relationship between molecular structure and DNA synthesis in hepatoma cells. *FEBS Letters*, **104**, 119—122.
163. Prescott, D. M. (1976) *The reproduction of eukaryotic cells.* Academic Press, New York
164. Price, G. B. McCulloch, E. A. and Till, J. E. (1975) Cell membranes as sources of granulocyte colony stimulating activities. *Exp. Hematol.*, **3**, 227—234.
165. Ramachandran, J. and Suyama, A. T. (1976) Inhibition of replication of normal adrenocortical cells in culture by adrenocorticotropin. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, **72**, 113—117.
166. Reinert, J. and Holtzer, H. (eds.) (1975) *Cell cycle and cell differentiation.* Springer Verlag, Berlin—Heidelberg—New York
167. Rijke, E. O. and Ballieux, R. E. (1978) Is thymus-derived lymphocyte inhibitor a poliamine? *Nature*, **274**, 804—805.
168. Ronzio, R. A. and Rutter, W. J. (1973) Effects of a partially purified factor from chick embryos on macromolecular synthesis of embryonic pancreatic epithelia. *Develop. Biol.*, **30**, 307—320.
169. Rose, S. M. (1958) Failure of self-inhibition in tumours. *J. Nat. Cancer Inst.*, **20**, 653—664.
170. Rossow, P. W., Riddle, V. G. H. and Pardee, A. B. (1979) Synthesis of labile, serum-dependent protein in early G_1 controls animal cell growth. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, **76**, 4446—4450.
171. Rost, T. L. and Gifford, E. M. (eds.) (1976) *Mechanism of control of cell division.* Dowden, Hutchington, Ross Inc., Stroudsburg
172. Rubinstein, M., Rubinstein, S., Familletti, P. C., Miller, R. S., Waldman, A. A. and Pestka, S. (1979) Human leukocyte interferon: production, purification to homogeneity and initial characterization. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, **76**, 640—644.
173. Rytömaa, T. and Toivonen, H. (1979) Chalones: Concepts and results. *Mech. Age. Dev.*, **9**, 471—480.
174. Rytömaa, T., Vilpo, J. A., Levanto, A. and Jones, W. A. (1976) Effect of granucyte chalone on acute and chronic granulocytic leukaemia in man. Report of seven cases. *Scand. J. Haemat.*, **27**, 5—28.
175. Sachs, L. (1978) Regulation of normal cell differentiation and malignancy in myeloid leukemia. *In:* Clarkson, B. et al. (eds.): *Differentiation of normal and neoplastic hemopoietic cells.* Cold Spring Harbor Lab., 411—423.
176. Seatren, H. A. (1956) Principle of auto-regulation of growth. Production of organ specific mitosis-inhibitors in kidney and liver. *Exp. Cell Res.*, **11**, 229—232.
177. Schumacher, K., Maerker-Alzer, G. and Wehmer, U. (1974) A lymphocyte-inhibiting factor isolated from normal human liver. *Nature*, **251**, 655—656.

178. Sekas, G., Owen, W. G. and Cook, R. T. (1979) Fractionation and preliminary characterization of a low molecular weight bovine hepatic inhibitor of DNA synthesis in regenerating rat liver. *Exp. Cell Res.*, **122,** 47—54.
179. Sell, S. and Becker, F. F. (1978) Alpha-fetoprotein. *J. Nat. Cancer Inst.*, **60,** 19—26.
180. Smith, J. A. and Martin, L. (1974) Regulation of cell proliferation. *In:* Padilla, G. M., Cameron, L. L. and Zimmerman, A. (eds.): *Cell cycle controls.* Academic Press, New York—San Francisco—London, 43—76.
181. Stein, G. S., Stein, J. S. and Kleinsmith, L. J. (1975) Chromosomal protein and gene regulation. *Sci. Amer*, **232,** 47—57.
182. Stillwell, E. F., Cone, C. M. and Cone, C. D. (1973) Stimulation of DNA synthesis in CSN neurons by sustained depolarisation. *Nature*, **246,** 110—111.
183. Sugár, J. and Csuka, O. (1972) A mizótis stimulációja és inhibiciója. *MTA Biol. Oszt. Közl.*, **15,** 277—291.
184. Szende, B., Tyihák, E., Kopper, L. and Lapis, K. (1970) The tumour growth promoting effect of ε-N-trimethyl lysine. *Neoplasma*, **17,** 433—434.
185. Szent-Györgyi, A. (1973) Electrons, molecules, biology and cancer. *Acta Biochem. Biophys.*, **8,** 117—127.
186. Their, H. and Rytömaa, T. (eds.) (1967) *Control of cellular growth in adult organisms.* Academic Press, London—New York
187. Thomas, G. and Gordon, J. (1979) Regulation of protein synthesis during the shift quiescent animal cells into the proliferative state. *Cell Biol. Internat. Rep.*, **3,** 307—320.
188. Thompson, L. R., and McCarthy, B. J. (1973) The effects of cytoplasmic extracts on DNA synthesis *in vitro. Bichem. Biophys. Acta*, **331,** 203—213.
189. Tisdale, M. J. and Phillips, B. J. (1977) cAMP binding, protein kinase activation and the inhibition of cell growth. *Exp. Cell Res.*, **104,** 135—142.
190. Tritsch, G. L. and Grahl-Nielsen, O. (1969) The structure of growth controlling peptides for mammalian cells in axenic culture. *Biochemistry*, **8,** 1816—1821.
191. Tutton, P. J. M. (1973) Control of epithelial cell proliferation in the small intestinal crypt. *Cell Tissue Kinet.*, **6,** 211—216.
192. Tyihák, E. and Patthy, A. (1973) On the chemical nature of „promine" and „retine". *Acta Agronom. Hung.*, **22,** 445—455.
193. Tyihák, E., Szende, B. and Lapis, K. (1977) Biological significance of methylated derivates of lysine and arginin. *Life Sci.*, **20,** 385—392.
194. Ujj, G., Kovács, P. and Hernádi, F. (1979) *In vitro* estimation of the proliferative state of murine marrow colony forming units in culture (CFUc) with hydroxyurea (HU). *Biomed. Express*, **31,** 61—68.
195. Van Wijk, R., Zoutep, Welle, G. and Van De Poll, K. W. (1979) Regulation of initiation of DNA synthesis in relation to mitosis in cultured hepatoma cells. *Cell Biol. Internat. Rep.*, **3,** 447—452.
196. Wada, B. (1974) Mitotic studies based on *in vivo* observations. *Cytologia*, **39,** 165—178.
197. Weiss, P. and Kavanau, J. L. (1957) A model of growth control in mathematical terms. *J. Gen. Physiol.*, **41,** 1—47.
198. Wright, E. G. and Lord, B. I. (1979) Production of stem cell proliferation regulators by fractionated haemopoietic cell suspensions. *Leukaemia Res.*, **3,** 15—22.
199. Yen, A. and Pardee, A. B. (1978) Exponential 3T3 cells escape in mid-G1 from their high serum requirement. *Exp. Cell. Res.* **116,** 103—113.

MOLECULAR CONTROL OF CELL PROLIFERATION. A REVIEW

A. Balázs

Inst. Exp. Medicine, Hung. Acad. Sci., Budapest, Hungary

The paper surveys the recent data on the chemical isolation and cell-biological action mechanism of the molecular regulators *(protors)*. Growth factors, chalones, retine, promine, intracellular repressors are equally modifying the multiplication of cell populations. The majority of the compounds is of protein or peptide in nature. The review gives details of the effects exerted on the phases of cell cycle, possible receptors, subcellular sites of attack, intracellular mediation, and the modulations in autosynthetic regulatory gene expression. Positive and negative protors are important factors in the mechanism of oncogenesis and cancer chemotherapy; their possible adaptation in pharmaceutical research is discussed, too.

Biológia, **28**, 1980. 53—76

LIMFOKINEK
(Biokémiai áttekintés)

T. SZABÓ MÁRIA

Semmelweis Orvostudományi Egyetem I. sz. Kémiai-Biokémiai Intézete, Budapest

Beérkezett: 1980. március 9-én

Kulcsszavak: limfocita, mediátor, immunválasz-, sejtkölcsönhatás szabályozása

A „Limfokin koncepció"

Definíció, csoportosítás

Az immunrendszer a szervezet sértetlenségét, állandóságát biztosítja és védelmezi; s alapvető funkciója az, hogy felismeri és megkülönbözteti a saját és nem-saját anyagokat, amelyek a szervezetben képződnek, illetve a környezetből a szervezetbe kerülnek. A megkülönböztetés következményeként a szervezet az idegen anyagok kiküszöbölésére immunreakciókkal válaszol, a sajáttal szemben toleránssá válik. Az immunvédekezés komplex folyamatát az immunreakciók, az immunfunkciók különböző megnyilvánulási formáinak összessége alkotja. Ma már biztosan tudjuk, hogy az immunvédekezésben, az immunfunkciókban döntő szerepük van a keringésben mozgó különböző típusú sejtek, illetve a sejt-szubpopulációk közötti kölcsönhatásoknak. A sejtkölcsönhatások vagy közvetlenek, vagy humorális faktorokon keresztül érvényesülnek: e faktorokat a különböző típusú limfoid sejtek termelik. Az immunválasz három fázisában, a kezdeti (afferens), a centrális és az effektor szakban változatos események zajlanak. A kezdeti szakaszban az idegen anyag, az antigén felismerése a limfociták membránján lévő receptorokon keresztül megy végbe. A centrális fázisban az antigénnel kapcsolatba került sejtek stimulálódnak, s számos, biológiailag aktív faktort termelnek. Az aktivált sejtek (T-, B-sejtek, illetve makrofágok) részben közvetlenül, részben e faktorok révén kerülnek egymással kapcsolatba, s effektor T-, illetve B-sejtek keletkeznek. Az effektor fázis az antigén kiküszöbölésének szakasza. Az immunválasznak azt a formáját, amely döntően B-sejtekhez, illetve azok produktumaihoz, az ellenanyagokhoz kötött, humorális immunválasznak nevezik. Az immunválasz másik formáját, amelyben az antigén felismerése és az effektor funkció egyaránt T-sejthez van kapcsolva, sejt-közvetített, vagy celluláris immunválasznak nevezik.

A kétfajta immunválasz alapján a humorális faktorok is lényegében vagy ellenanyag vagy nem-ellenanyag természetűek.

Használt rövidítések:* **LK: limfokin; **MIF:** makrofág migrációt gátló faktor; **CK:** citokin; **MK:** monokin; **LT:** limfotoxin; **IDS:** DNS szintézis inhibitor; **CF:** kemotaktikus faktor; **LIF:** leukocita migrációt gátló faktor; **MAF:** makrofág aktiváló faktor; **PHA:** fitohemagglutinin; **Con-A:** Concanavalin-A; **PWM:** pook-wead mitogén; **LPS:** (bakteriális) lipopoliszacharid antigén; **PMN-sejtek:** polimorfonukleáris sejtek; **DFP:** diizo-propil-fluoro-foszfát

A limfokin (LK) összefoglaló neve minden, limfocitából származó, nem ellenanyag tulajdonságú fehérjének. A limfokinek a celluláris immunvédekezésben a sejtek közötti kölcsönhatásokat mediálják, és nagyon fontos szerepük van a celluláris immunfolyamatokban.

A celluláris immunreakció minden megnyilvánulásában — egyetlen kivételtől, a limfocita dependens direkt citotoxicitási reakciótól eltekintve — bebizonyították, hogy a T-limfocitákból az antigén hatására felszabaduló oldható faktorok befolyásolják, mozgósítják azokat az „effektor" mechanizmusokat, amelyeknek a működése végül az antigén kiküszöböléséhez vezet.

A limfokinek története 14—15 éves múltra tekint vissza. 1966-ban egymástól függetlenül két munkacsoportban [8, 15] is kimutatták, hogy a gyulladásos folyamatokban, a gyulladás helyén olyan oldható fehérje termelődik, amely a helyi reakcióban közreműködő makrofágok vándorlását, migrációját *in vitro* körülmények között gátolja. E faktor, a „migrációt gátló faktor" (MIF) volt az első LK, amelyet leírtak. A MIF biológiai hatását rövid időn belül *in vivo* megfigyelésekkel is alátámasztották.

A döntő előbbrejutást a LK-ek megismerésében az a kísérleti eredmény jelentette, hogy *in vitro* körülmények között is sikerült MIF hatású faktort nyerni [9]. Ha immunizált állatból származó limfocitákat a szenzitizáló antigén jelenlétében *in vitro* tenyésztenek, a médiumban 3—5 nap után MIF hatású anyag mutatható ki. A nyugalmi állapotban lévő immunsejtek *in vitro* körülmények között az antigén hatására aktiválódnak: a sejtek a G_0 fázisból a G_1 fázison keresztül az S fázisba, a DNS szintézis szakaszába kerülnek. Ezt a jelenséget nevezik limfocita aktiválásnak, stimulálásnak. Az aktivált limfocitákból a migrációt gátló faktoron kívül számos, különböző biológiai hatású faktor szabadul fel.

Az eredeti limfokin-koncepció szerint a limfokinek a sejtközvetített immunválasz mediátorai. Az utóbbi időben azonban a LK-ek csoportjába sorolnak minden limfocitából származó fehérjét, amely az immunválasz mindkét megjelenési formájában, specifikusan vagy nem-specifikusan szabályozza a különböző típusú limfoid sejtek, makrofágok, T-limfociták, B-limfociták közötti kölcsönhatásokat [72—75].

Az LK-eket az aktivált limfociták médiumából nyerik, illetve abból izolálják, s minthogy a limfociták aktiválása *in vitro*, polikloniásan, mitogénekkel is elérhető, a LK-ek termelése független az aktiválás módjától.

A LK-ek biológiai hatását azzal jellemzik, hogy *in vitro* körülmények között egy kiválasztott célsejt valamilyen mérhető funkciójának változását regisztrálják a LK-jelenlétében. A LK-t a célsejt megváltozott biológiai paraméterének alapján nevezik el, de az elnevezésre nincs „hivatalos" megállapodás. Aki egy új faktort leír, az el is nevezi; az ajánlott nevet, a rövidítéssel együtt az irodalom tudomásul veszi.

A LK-eket különböző szempontok szerint lehet csoportosítani, minthogy hatásuk sokrétű és szerteágazó; s a vizsgált célsejttől, illetve a vizsgált sejtfunkciótól függően az aktivált limfociták produktumai, a LK-ek különbözőek lehetnek *(I. táblázat)*.

A „mediátor koncepció" az idők folyamán tovább bővült, s általánosíthatóvá vált a nem limfoid sejtekkel, sejtkultúrákkal végzett vizsgálatok alapján, mert replikálódó, nem limfoid sejtek médiumából — pl. fibroblasztkultúrák, HeLa sejtek, vírussal fertőzött, illetve transzformált sejtek felúszójából — számos, a limfokinekhez hasonló faktort izoláltak [45, 70, 81, 82,

I. táblázat

A limfokinek csoportosításának szempontjai
Table 1. Aspects of classification of lymphokines.

Célsejt	Makrofág Limfocita PMN-sejt Nem-limfoid sejt
Indukció természete	Specifikus: antigén Nem-specifikus: mitogén pl: PHA, Con-A PWM, LPS
Célsejt vizsgált tulajdonsága	„Biológiai" paraméterek pl: motilitás (MIF, LIF, CF) pl: citotoxikus hatás (LT) „Biokémiai paraméterek" pl: DNS szintézis gátlás (IDS) fokozás (MF)

90]. *Citokinnek* (CK) neveznek minden olyan biológiai hatású fehérjét, amelyet a sejtkultúrák médiumából izolálnak [13], s ezen a nagy csoporton belül a limfokinek egy speciális csoportot alkotnak. A monocitákból, makrofágokból származó citokineket *monokineknek* (MK) nevezik.

A *II. táblázat*ban az 1979-ig számon tartott limfokineket és monokineket foglaltuk össze, WAKSMAN által ajánlott csoportosításban; számuk száz körül van.

Ismertetésünkben a monokinekkel nem foglalkozunk, bár ezeknek szintén fontos szerepük van az immunfolyamatokban.

A limfokinek általános, közös tulajdonságai

Biokémiai kritériumok szerint a LK-ek nehezen definiálhatók és nem jellemezhetők, s ilyen értelemben közös tulajdonság — a fehérje természeten és a limfocita származáson kívül — nincs. A következőkben megpróbáltuk összefoglalni azokat a tulajdonságokat, amelyek minden LK-ben közel azonosak, illetve azokat a kritériumokat, amelyek alapján egy biológiai hatású faktor LK-nek minősül.

1. A LK *in vitro* terméke a limfocitának. A mediátorok termeléséhez a limfocitákat 3—11 napig, *in vitro* körülmények között inkubálják. Néhány LK esetében tanulmányozták, hogy a limfocita aktiválás milyen periódusában következik be a fehérje oldatba jutása, termelése (LT-MIF, IDS). Biztosnak látszik az a megállapítás, hogy a LK produkció a sejtekben az S fázis elindulása előtt befejeződik.

2. A limfokin termelés a limfocita aktiválás egyik megnyilvánulása, tehát minden aktivált sejtkultúrában kimutatható. A sejteket a limfokin termelésre vagy specifikusan vagy nem-specifikusan lehet indukálni.

II. táblázat

Limfokin és monokin osztályok

Table 2. Classes of lymphokines and monokines.

	n^x	Cél-sejt
A) *Antigén specifikus faktorok* (+MHC*)		
Helper faktorok	6	limfocita
pl: TF transzfer faktor (LK)		
Antigén specifikus TRF (T-sejtet helyettesítő faktor, LK)		
Szupresszor faktorok	7	limfocita
pl: Antigén specifikus szupresszor T-sejt faktor (LK)		
Makrofágokra ható faktorok	2	makrofág
pl: Specifikus makrofág „arming" faktor (SMAF, LK)		
B) *Nem specifikus faktorok* (—MHC*)		
Helper faktorok	3	limfocita
pl: AEF allogén effektus faktor (LK)		
Szupresszor faktorok	3	limfocita
pl: MLR (kevert limfocita reakció) szupresszor faktor (LK)		
C) *Nem specifikus faktorok* (—MHC)		
Helper faktorok	15	limfocita
pl: LAF limfocita aktiváló faktor (MK)		
TRF T-sejtet helyettesítő faktor (LK)		
BAF B-sejtet aktiváló faktor (MK)		
Szupresszor faktorok	18	limfocita
pl: AIM antitest gátló anyag (LK)		
DNS szintézis inhibitorok (MK)		
IF interferon (LK, ill. vírus fertőzés után más sejtből is)		
Gyulladásos folyamatban résztvevő sejtekre ható faktorok	16	limfocita makrofág PMN-sejtek
pl: MIF migrációt gátló faktor (LK)		
MAF makrofág aktiváló faktor (LK)		
LIF leukocita gátló (migrációt gátló) faktor (LK)		
MCF vagy CF makrofágra ható kemotaktikus faktor (LK)		
NCF neutrofil sejtre ható kemotaktikus faktor (LK)		
Endothel sejtekre ható faktorok	5	endothelium
pl: SRF bőrreaktív faktor (LK)		
Más sejtekre ható faktorok	4	—
pl: TMIF tumor sejt migrációt gátló faktor (LK)		
OAF oszteoklaszt aktiváló faktor (LK)		
Sejt szaporodást, sejt proliferációt stimuláló faktorok (Growth Stimulating Factors)	6	limfocita makrofág endothelium hemopoietikus sejtek
pl: MF mitogén faktor (LK)		
TDF thymus differenciálódási faktor (MK)		
Direkt ható faktorok	13	limfocita tumor sejt paraziták
pl: CTF citotoxikus faktorok (MK)		
LT limfotoxin (LK)		
PIF proliferációt gátló faktor (LK)		
CIF kolónia képződést gátló faktor (LK)		
IDS DNS szintézis inhibitor (LK)		

n^x: a csoportba tartozó citokinek száma.

* +MHC: a fő hisztokompatibilitási komplex által korlátozott faktorok
—MHC: a fő hisztokompatibilitási komplex által nem korlátozott faktorok.

Specifikus aktiválás során antigénnel szenzitizált, immunizált állatból származó limfocitákat a specifikus antigén jelenlétében inkubálnak.

Nem-specifikus aktiválásnál nem immunizált állatból származó limfocitákat sejtproliferációt elindító ágensekkel, mitogénekkel indukálnak. Ilyenek: PHA, Con-A, PWM, LPS, stb.

Minthogy a limfocita stimulálás mechanizmusa pontosan nem ismert, ezért a LK termelés, illetve a termelésre való indukció mechanizmusa sem. Sok jel mutat azonban arra, hogy a limfocita aktiválásában a ciklikus nukleotidok és a Ca^{2+} koncentráció megfelelő kombinációja, mint együttes szignál indítja el a limfocita aktiválódási folyamatát, és a LK produkciója már az antigén, illetve a mitogén indukció korai szakában, az első 12 órában megindul, s a harmadik, negyedik napon maximumot ér el.

3. Az irodalomban elterjedt felfogás szerint a LK nincs jelen preformáltan a sejtben, hanem az aktiválódás folyamata közben szintetizálódik. A nyugalmi állapotban lévő sejtekben — a G_0 fázisban — a LK termelésre való képesség represszálva van, ezek a sejtek LK-t talán nem is termelnek.

4. A limfokin felszabadulását a sejtből nem szekréciónak, hanem spontán „release"-nek tartják. Az aktiváló ágens és a sejtmembrán megfelelő receptorának kölcsönhatása következtében a limfocita aktiválódik, a sejtben a LK szintézise megindul (vagy fokozódik) és az aktiválódás folyamata közben a LK a sejtből felszabadul.

5. Minden limfokin fehérje, pontosabban glikoprotein. Teljesen homogén, biokémiai értelemben egységes LK-fehérjét eddig még nem sikerült izolálni, ezért egyik LK-nek sem ismerjük a kémiai felépítését, szerkezetét, s még az aminosav összetétel, illetve a szekvencia sincs felderítve egyetlen LK esetében sem. A hagyományos értelemben vett limfokinek biztosan nem ellenanyag természetű fehérjék, s ilyen fehérje fragmentumának sem bizonyultak.

6. A limfokinek általában nem enzimek; a tisztított LK-preparátumokban — két kivételtől eltekintve (lásd később) — enzimaktivitást nem sikerült eddig kimutatni.

7. Milyen típusú sejteket vesznek célba a limfokinek? Célsejtjeik egyaránt lehetnek limfoid és nem-limfoid sejtek is; tehát limfociták, makrofágok polimorfonukleáris sejtek, illetve fibroblasztok, endothel sejtek. Gyakran alkalmaznak célsejtként tumorral transzformált sejtsorokat: pl. HeLa, Hep2 sejteket.

8. A limfokinek vizsgálatának kezdeti szakaszában feltételezték és a kísérleti eredmények is arra mutattak, hogy a LK-eket T-limfociták termelik. Egyes LK-ek esetében bizonyítást nyert, hogy kizárólag aktivált T-sejtekből, illetve a T-sejtek egy meghatározott szubpopulációjából származnak [14, 42, 78]. De egyes LK-eket B-sejtek is termelhetik, mivel a B-limfocitákra ható mitogén aktiváláskor is ki lehet mutatni a sejtek médiumában LK-aktivitást [2, 10, 55, 89, 92]. Ez azt is alátámasztja, hogy folyamatos kultúrában fenntartott limfoid sejtsorok, limfoblasztok, amelyek főként B-sejt eredetűek, folyamatosan produkálnak pl. MIF-et, LT-t, CF-t [23, 70, 92]. Az ilyen sejtkultúráknál aktiváló ágenst nem alkalmaznak, vagyis ezek a sejtek a LK-eket spontán termelik. A limfoblaszt kultúrák spontán LK produkciója nagy irodalmi vitát tart ébren, mivel ezek a LK-ek semmiben sem különböznek az *in vitro* stimulált sejtekből felszabaduló LK-ektől.

9. A limfokinek specifitásának a kérdése nem definiálható általánosan, amióta a LK-ek csoportjába soroltak az immunválaszt specifikusan szabályozó faktorokat.

A „hagyományos" LK-ek többsége nem rendelkezik specifitással az indukáló antigénre, s a LK termelés nem-specifikus indukcióval is kiváltható. Az antigén és a mitogén által indukált megfelelő limfokinek azonosnak látszanak.

10. Néhány limfokinről bebizonyították, hogy a fehérje a célsejthez a sejteken lévő specifikus receptoron keresztül kapcsolódik. A receptor jelenlétét kimutatták a makrofágokra ható migrációt gátló faktor (MIF), illetve a PMN-sejtek migrációját gátló faktor (LIF) esetében [4, 51, 57]. Arra nincs bizonyíték, hogy a LK a célsejtbe bejut. A célsejteken lévő LK-receptor létezését a limfokin hatásában szükséges feltételezni, s a LK-ek hatását általában a hormonok hatásához hasonlítják. Az analógia alapján a LK-ek hatásmechanizmusában a következő lépéseket lehet feltételezni:

a) specifikus membránhoz való kapcsolódás;

b) másodlagos messenger intracelluláris felszabadulása;

c) a LK-hatást okozó intracelluláris „biokémiai" esemény vagy eseménysorozat.

Egyik LK esetében sem ismert azonban az, hogy a LK—sejtmembrán kapcsolat milyen természetű, s a közvetítő rendszerről is csak kezdetleges feltételezések vannak.

Néhány limfokin esetében azonban vizsgálták és többé-kevésbé ismerik a célsejtekben végbemenő egyes biokémiai, illetve metabolikus változásokat.

11. A LK-eket termelő sejtek médiuma — elvileg — nagyszámú, különböző biológiai hatású, egymástól nehezen szeparálható fehérjét tartalmaz. A médium fehérje koncentrációja, a ml-ként 10^6—10^7 sejtet tartalmazó szuszpenzióban pár napos inkubálás után is rendkívül alacsony, csak μg-okban fejezhető ki, s ezen belül az individuális LK mennyiség nagyon csekély. Ez a körülmény teszi érthetővé, hogy miért nehézkes és miért olyan hiányos a LK-ek biokémiai karakterizálása, és vizsgálata.

A LK biológiai hatását vagy direkt a koncentrált médiummal vagy a szokásos fehérje tisztítási módszerek alkalmazása után tisztított preparátumokkal vizsgálják. Az alkalmazott tisztítási módszerek: reverzibilis kicsapás, gélszűrés, ioncserélő kromatográfia, gél-elektroforézis stb.

12. A LK-ek hatásának vizsgálata és a hatás kvantitatív értékelése a célsejt *in vitro* mérhető tulajdonságán, egy kiválasztott sejtfunkció regisztrálásán alapul. A vizsgálati módszerek két csoportba sorolhatók: biológiai tesztek (pl. motilitás, citolízis) és biokémiai módszerekkel mérhető sejtfunkciók vizsgálata. Utóbbiak közül a célsejt fehérje-, RNS-szintézise, spontán és stimulált DNS szintézise, ciklikus nukleotid tartalma a legáltalánosabban mért biokémiai paraméterek. A tisztább, illetve a „népszerűbb" LK-ek esetében (MIF, MAF, CF, IDS) főként citokémiai módszerekkel, a célsejtek egyes enzimeinek aktivitás változását is vizsgálták [16, 50].

A biológiai hatás értékelése sok nehézséget okoz, s még ha a LK preparátum aránylag homogén is, a különböző kutatók által mért hatások gyakran akkor sem hasonlíthatók össze.

13. A LK-ek molekulasúlya 10—100 000 dalton között van, de előfordul, hogy a különböző laboratóriumok ugyanazon LK-re eltérő molekulasúlyokat adnak meg. Ezért a molekulasúlyra vonatkozó irodalmi adatokat jogosan fogadhatjuk kétkedéssel. Három kiterjedtebben vizsgált LK-nek — MIF, LT, CF — közös és feltűnő tulajdonsága a nagymértékű molekuláris heterogenitás. A mérés érzékenységének fokozásával, a kisérleti körülmények

gondosabb megválasztásával és ellenőrzésével, vagy a fehérje izolálási módszerek alkalmazása következtében — mindhárom LK-nál — a kezdetben egységesnek, határozott méretűnek tartott LK-molekula heterogénnek mutatkozott [1, 24, 26, 30, 38, 53, 63, 79]. Az említett LK-ek esetében az is különösnek és figyelemre méltónak tűnik, hogy egyes molekuláris formák mindhárom LK-nél megtalálhatók.

14. A LK forrása bármilyen limfocita lehet. A kísérleti állatok közül szinte minden laboratóriumi állatot (egér, patkány, tengerimalac) kipróbáltak, a leggyakrabban lép- nyirokcsomó-, illetve thymus-sejtekkel dolgoznak.

A humán LK-ek esetében LK forrásként legáltalánosabban tonzilla, illetve adenoidból származó limfocitákat alkalmaznak, de használnak perifériás limfocitákat is. Ezen kívül — ahogy azt már említettük — limfoid sejtkultúrák is termelnek LK-eket.

A limfokinek *in vivo* hatása

A limfokineket *in vitro* körülmények között nyerik, biológiai hatásukat *in vitro* megfigyelések alapján állapítják meg. Az immunvédekezésben feltételezett fontos szerepüket, biológiai funkciójukat véglegesen csak *in vivo* vizsgálatokkal lehet bizonyítani. Működésükre, hatásukra vonatkozólag valóban számos direkt bizonyíték van.

Többféle tisztított LK preparátum intakt állatba juttatásával, injekciójával olyan effektusokat lehet kiváltani, amelyek kapcsolatba hozhatók a limfokin *in vitro* mért hatásával. Az immunrendszer hiányos vagy túlműködésére utaló kórképekben, a szérumban, illetve más testfolyadékokban a LK-ek jelenlétét ki lehet mutatni. (A jelen összefoglaló azonban nem tűzte ki céljául a limfokinek *in vivo* hatásának összefoglalását.)

Az *in vivo* végzett vizsgálatok és egyéb megfigyelések alapján feltétlenül bizonyítást nyert, hogy a limfokinek valóban fontos szerepet töltenek be a sejtmediált immunválasz különböző megnyilvánulásaiban, s az immunreakciók szabályozásában, a bakteriális és vírusfertőzés elleni védekezésben, az allograft kilökésében, a tumor elleni immunitásban.

Néhány fontosabb limfokin részletesebb ismertetése

A *II. táblázat*ban csak néhány limfokint soroltunk fel „név szerint". S rendkívül nehéz feladat volna közülük a legfontosabbat részletesebb ismertetésre kiválasztani.

A limfokin kutatás a T-sejt függő (immun) gyulladásos folyamatokban résztvevő faktorok felfedezésével és vizsgálatával indult és szélesedett, majd az érdeklődés az immunfolyamatok szabályozásában közreműködő faktorok felé fordult. Utóbbiak azonban — egy-két kivételtől eltekintve — jelenleg is általában csak a felfedezés stádiumában vannak. Ezért három olyan limfokint választottunk ki közelebbi ismertetésre, amelyeket az elmúlt években önálló fehérjeként izoláltak, alaposabban tanulmányoztak és biokémiai szempontból jobban karakterizáltak. A kiválasztás önkényes és szubjektív és semmiképpen sem fontossági sorrendet tükröz.

1. A makrofág migrációt gátló faktor (MIF), a makrofág aktiváló faktor (MAF) és a leukocita migrációt gátló faktor (LIF)

E fejezet összeállításánál a 4—7, 12, 39, 48—54, 56—58 és a 90 forrásokat használtuk.

Két migrációt gátló faktor ismert: egyik a MIF, a makrofágok spontán, random motilitását gátolja; a másik a LIF, a polimorfonukleáris sejtek (leukociták vagy granulociták) migrációját csökkenti.

Hatásukat legelterjedtebben a „kapilláris cső" módszerrel, illetve BOYDEN-féle migrációs kamrában mérik.

A harmadik faktor, amely ide sorolandó, a makrofág aktiváló faktor, a MAF, amelyről meggyőző irodalmi adatok bizonyítják, hogy azonos a MIF-fel, a makrofág migrációt gátló faktorral. Sokáig azért tartották a két faktort különbözőnek, mert az aktivált limfociták médiumából származó MIF hatását legfeljebb 24 órás kísérletben, a migráció gátlás alapján tanulmányozták; s hasonló médiumból a MAF hatását 24—72 órás vizsgálat alapján mérték, s egy más sejt paramétert, a makrofágok aktivált állapotát regisztrálták. Most már bizonyosra vehető, hogy egy és ugyanazon faktorról van szó.

a) MIF (MAF) hatása a target sejtekre

MIF hatására, az első 24 órában, a makrofágok spontán, kemoattraktáns távollétében észlelt random motilitása, migrációja kifejezetten csökken. A változás már az első órától kezdve kimutatható, de a migráció gátlása átmeneti, s 24 óra körüli MIF-fel való érintkezés során megszűnhet, illetve fokozott motilitás is észlelhető. MIF hatására a target sejtek „kikerekednek", s fénymikroszkóppal is megfigyelhető jellegzetes morfológiai változások következnek be.

24 óránál hosszabb érintkezés után a makrofágok megnagyobbodnak, adherenciájuk fokozódik, gyakran aggregálódnak, s a sejtekben a vakuolumok, lizoszómák megszaporodnak. Ez már a makrofág jellegzetes aktivált állapota, s ez lényeges ultrastrukturális változást jelent. Többek között a sejtek pinocitózisa — kolloidális arannyal vagy fenolvörössel vizsgálva — fokozódik. A MIF hatásának hosszabb ideig kitett makrofág biológiai tulajdonságai megváltoznak, kifejezettebbekké válnak, legjellemzőbb, hogy növekszik a baktériumokat, tumor sejteket pusztító hatása, s ez a tulajdonság jól mérhető (MAF hatás).

A makrofágokban MIF jelenlétében 48—72 óra alatt a *III. táblázat*ban összefoglalt változások következnek be (a változások sorrendje az időbeli sorrendet követi).

A regisztrált metabolikus változások közül figyelmet érdemel a glukóz direkt oxidációjának a fokozódása a hexózmonofoszfát söntön keresztül, a fokozott NADPH oxidáció, s az LDH aktivitás emelkedése. Ezek a változások szolgáltatják valószínűleg az alapokat a membrán-lipidek szintéziséhez, amelyre az aktivált makrofágoknak fokozottabb igényük van.

MIF hatására a target sejtekből számos lizoszomális enzim szabadul fel. Kb. 48 órás MIF-fel való érintkezés után a makrofágokból jelentős mennyiségben béta-glukuronidáz, savanyú-foszfatáz, béta-galaktozidáz, neutrális proteáz és kollagenáz szabadul fel. A fehérjeszintézis a célsejtekben MIF hatásá-

III. táblázat

Aktivált limfocita médium (MIF, MAF) hatása a makrofágokra (24—72 óra)

Table 3. Effect of the factor MIF (MAF) present in the medium of activated lymphocytes on macrophages.

Fokozódik	— szétterülés, ragadósság
	— „gyűrűző" membrán aktivitás
	— fagocitózis (csökkenhet is)
	— adenilcikláz aktivitás
	— glukóz, glukózamin, leucin transzport
Csökken	— elektrondenz sejtfelület
	— elektroforetikus mobilitás
Fokozódik	— pinocitózis
	— glukóz-6-P-dehidrogenáz aktivitás
	— NADPH oxidáció
	— tejsavdehidrogenáz aktivitás
	— lizoszomális enzimek (csökkenhet is!) aktivitása
	— citoplazmatikus granulák mennyisége
	— kollagenáz aktivitás
	— plazminogén aktivátor termelés
	— Ca^{++} felvétel
	— cGMP-szint
	— prosztaglandin termelés
	— baktericid kapacitás
	— tumor sejt elleni citotoxicitás

(David, J. R., Remold, H. G. (1976)).

ra jelentős mértékben nem változik meg, jelzett aminosavak inkorporációja alapján mérve. Ha a target sejtek fehérjeszintézisét MIF jelenlétében gátolják, a MIF migrációt gátló hatása, illetve a sejtek aktiválódása nem mutatható ki.

b) MIF receptor

A makrofágok a MIF számára receptort hordoznak a membránjukon. Ezt az bizonyítja, hogy tripszinnel kezelt target sejteket a MIF nem érinti, valamint az, hogy alfa-L-fukóz a faktor hatását megszünteti. S mivel más hexózok, illetve hexóz-származékok nem gátolják a MIF makrofágokra gyakorolt hatását, ezért nagyon valószínű az, hogy egy fukóz végű MIF receptort hordoz a sejt. Ezt az a megfigyelés is alátámasztja, hogy a MIF hatását megakadályozza az, ha makrofágokat egy fukóz kötő, de nem mitogén hatású lektinnel előkezelik (a lektin a *Lotus tetragonolobus*ból származik).

c) Fizikai-kémiai tulajdonságok

Izoelektromos fókuszálással két különböző izoelektromos pontú MIF fehérjét azonosítottak, s gélszűréssel 4 különböző molekulasúlyú aktív MIF frakciót különítettek el tengerimalacból származó faktor esetében; tehát a MIF molekuláris heterogenitást mutat. Az izomérek molekulasúlya: 12 000, 23 000, 45 000 illetve 65 000 dalton. A humán, illetve az egér eredetű MIF-re

vonatkozólag is találtak heterogenitást, de egy és ugyanazon munkacsoport nem írta le mind a négy említett izomért.

A MIF aránylag stabilis fehérjének mutatkozik; tisztítatlan formában — az aktivált limfociták médiumában — a MIF aktivitás +4 °C-on 3—10 napig megmarad. A tisztított MIF —70 °C-on évekig is eltartható aktivitás-veszteség nélkül. A tapasztalat szerint a nagyobb molekulasúlyú frakciók, — elsősorban a 65 000 molekulasúlyú forma — stabilis, a kisebbek labilisak. A tisztított MIF fehérje 30 perc alatt 80 °C-on denaturálódik, de 56 °C-on 30 perces kezelést kibír. A tisztított MIF preparátum a fagyasztást—felolvasztást nem bírja, e műveletnél aktivitása csökken, vagy elvész. Ammóniumszulfáttal a fehérje 50—80 %-os telítésnél csapódik ki. A MIF fehérje liofilizálható.

d) Enzimatikus karakter, LIF

A polimorfonukleáris sejtekre ható migrációt gátló faktor, a LIF tulajdonságait nem vizsgálták olyan részletesen és kiterjedten, mint a MIF faktorét. Az irodalom alapján úgy tűnik, hogy a LIF, bár funkciója szerint hasonló, de nem azonos a MIF fehérjével, s erre a különbségre éppen az enzimatikus karakterre vonatkozó megállapítások utalnak. Az elmúlt években kiterjedten és alaposan tanulmányozták, hogy a MIF hatása magyarázható-e a fehérje enzimatikus aktivitásával, vagyis enzim-e a MIF vagy sem.

A humán eredetű MIF-ről többen kimutatták, hogy szerin-proteáz aktivitással bír, mert hatását DFP gátolja. De legalább ugyanannyian cáfolták is ezt a megfigyelést. A tengerimalacból származó MIF esetében DFP gátlást soha nem tapasztaltak, míg a vírussal transzformált sejtek által termelt MIF szintén gátolható volt, sőt szójabab inhibitor, tripszin-inhibitor szintén csökkentette a MIF biológiai hatását, míg N-benzol-arginin-amid, illetve tosyl-L-arginin-metilészter nem. A jelenlegi irodalmi állásfoglalás alapján a tengerimalac MIF biztosan nem tekinthető szerin-proteáznak, és a humán eredetű MIF enzimaktivitását is általában szennyezésnek tartják. Egyértelműen elfogadják azonban azokat a vizsgálati eredményeket, amelyek a LIF enzimatikus karakterét bizonyítják, s ebben a tekintetben a kísérleti eredmények nem ellentmondásosak. A LIF irreverzibilisen gátolható DFP-vel (10^{-3}—10^{-5} M), illetve fenil-metil-szulfonil-fluoriddal. A LIF mesterséges szerin-proteáz szubsztrátokat hidrolizál, pl. a benzol-arginin-etilésztert bontja. Az enzim természetes szubsztrátjáról semmilyen elképzelések nincsenek, de feltételezik, hogy a LIF, mint enzim a PMN-sejtek membránján hat.

2. A limfotoxin (LT)

E fejezet összeállításánál az irodalomjegyzékben található 2, 4, 10, 18, 22—32, 34, 35, 46, 47, 59, 60—62, 64—66, 68, 69, 79, 80, 84, 86—88 forrásokat használtuk.

A LK-ek közül az egyik legjobban jellemzett mediátor a limfotoxin. Ez a megállapítás különösen érvényes a humán LT-ra, mert a humán LK-ek között ezt ismerjük a legjobban. Az utóbbi években azonban, a tengerimalacokból származó LT-en kívül, az egér, patkány, nyúl LT-re vonatkozó irodalmi adatok is nagyon megszaporodtak.

a) LT hatása a target sejtekre

A limfotoxin biológiai hatása a target sejtek elpusztításában nyilvánul meg, illetve kisebb LT koncentráció alkalmazásakor a target sejtekben a fehérje és a DNS szintézis sebessége csökken.

A LT citotoxikus tulajdonsága sokféle módszerrel vizsgálható. Két módszer van általánosabban elterjedve: egyik szerint ^{51}Cr-mal jelzett target sejteket inkubálnak a faktor jelenlétében, s a faktor hatására bekövetkező lízist a sejtekből felszabaduló, oldatba jutó radioaktivitás nyomon követése alapján mérik. A másik módszernél a LT-nal történő inkubálás után az élő sejtek számát határozzák meg.

A limfotoxin gyakorlatilag minden sejtre toxikus hatású, és limfoid, illetve nem-limfoid sejteket egyaránt lizál. Van azonban néhány olyan sejtsor, amely nagyon érzékenyen reagál a LT-re; ilyen pl. egy egér fibroblaszt sejtsor, az L-929. Éppen ennek a sejtnek az alkalmazása és elterjedése tette lehetővé, hogy a LT-ról, sőt limfotoxinokról, molekuláris felépítésükről aránylag sokkal többet tudunk, mint a többi LK-ról.

b) Limfotoxin források

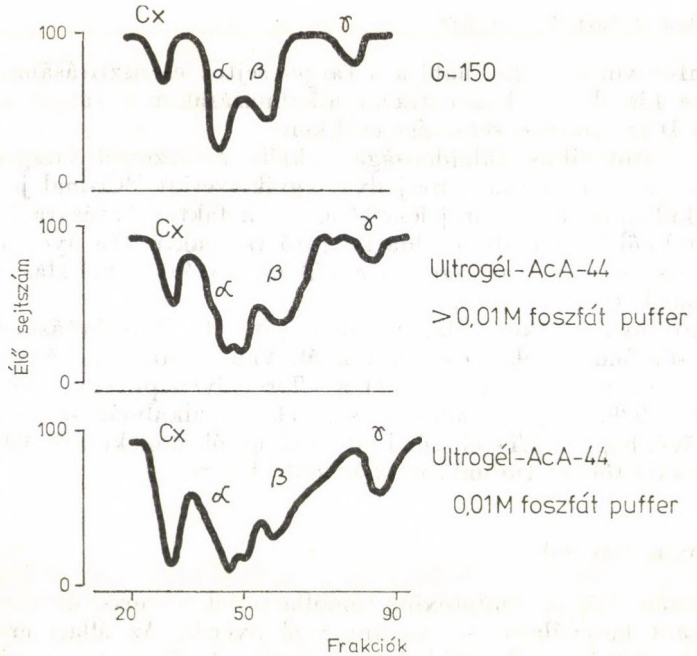
A humán eredetű limfotoxint tonzilla sejtek — orr-, illetve garatmandula egyaránt használatos — médiumából nyerik. Az állati eredetű LT-t lépsejtekkel, nyirokcsomósejtekkel termeltetik. Antigén, vagy mitogén egyaránt kiválthatja az LK produkcióját, a humán LT esetében csak mitogén aktiválás jöhet szóba.

A limfotoxint a humán limfoblaszt sejtsorok aktiválás nélkül termelik.

c) Fizikai-kémiai tulajdonságok

A limfotoxinok — egy fajon belül — különböző molekulasúlyú és töltésű, változó stabilitású, komplex rendszert alkotnak. Az egyes molekulaformákat a szokásos fehérjetisztítási módszerekkel, többszörös gélszűréssel, ioncserélő kromatográfiával, gélelektroforézissel választják el egymástól. Az aktivált limfociták médiumában — szinte biztosnak látszik —, hogy mindegyik molekuláris forma benne lehet, illetve benne van. Egymáshoz viszonyított arányuk azonban attól függ, hogy a sejtek médiumában milyen időpontban mérik a citotoxikus aktivitást. A toxin termelése a sejtekben, az indukáló ágens jelenlétében 1—2 óra alatt megindul, s a termelés határozott, jól reprodukálható kinetikát mutat. A médiumban az LT koncentrációja 4—5 nap alatt éri el a maximumot.

A LT-t termelő sejtekben a második-harmadik naptól kezdve szintén ki lehet mutatni a faktor jelenlétét. Az utóbbi években a humán, illetve 1979-ben az egér LT-ra vonatkozólag megállapították, hogy a limfotoxin-rendszer különböző molekulasúlyú, aktív formákból áll; az egyedeken belül ezeket LT-osztályoknak nevezik. 4 LT-osztály van: alfa, béta, gamma és a komplex LT osztály. Az alfa osztály molekulasúlya 70—90 000 dalton; a béta osztályé 35 000—50 000 dalton; a gamma-osztályé 12 000—20 000 dalton; a komplex osztály molekulasúlya 200 000—600 000 daltonig terjed. Az alfa osztály négy alosztályból, a béta osztály két alosztályból áll *(1. és 2. ábra)*.



1. ábra. Humán limfotoxin osztályok
(GRANGER, G. A., YAMAMOTO, R. S., FAIR, D. S., HISERODT, J. C. (1978))
ábramagyarázat: Cx = LT-komplex

Fig. 1. Classes of human lymphotoxin

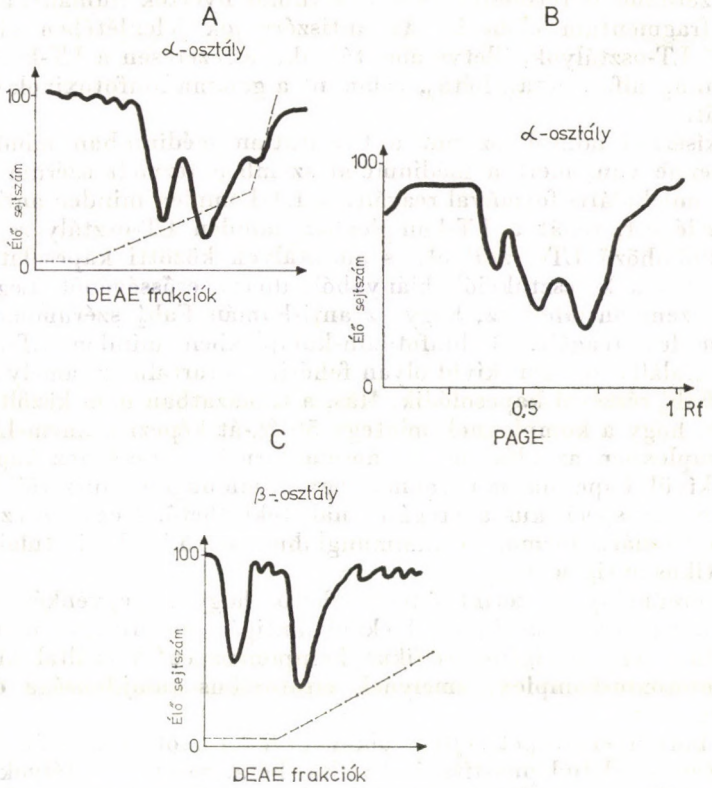
IV. táblázat

Humán limfotoxinok reaktivitása heterológ anti-LT szérumokkal

Table 4. Reactivity of human lymphotoxins with heterologus anti-LT sera

Használt antiszérumok	Komplex	LT osztályok és alosztályok					
		$alfa_1$	$alfa_2$	$alfa_3$	$béta_1$	$béta_2$	gamma
Anti-teljes szupernatans	++	++	++	++	++	++	++
Anti komplex	++	+	+	+	nm	nm	nm
Anti-alfa-osztály	++	++	++	++	—	—	++
Anti-béta-osztály	++	+	—	+	++	++	+
Anti-$alfa_1$-alosztály	++	++	—	++	—	+	nm
Anti-$béta_1$-alosztály	++	—	—	—	+	—	+
Anti-humán Fab_2'	++	—	—	—	—	—	nm

++ = 40—100% semlegesítés
\+ = 10—40% semlegesítés
— = 0—10% semlegesítés.
nm = nem mérték
(YAMAMOTO, R. S., HISERODT, J. C., LEWIS, J. E., CARMACK, C. E., és GRANGER, G. A. (1978)).



2. ábra. Egér[a] és humán[b] limfotoxin alosztályok
(a: Hiserodt, J. C., Tiango, G. J., Granger, G. A. [1979])
(b: Granger, G. A., Yamamoto, R. S., Fair, D. S., Hiserodt, J. C. [1978])
ábramagyarázat: A, B: egér alfa LT alosztályok; C: humán béta LT alosztályok

Fig. 2. Murine[a] and human[b] lymphotoxin subclasses

d) Anti-limfotoxin szérumok alkalmazása a LT vizsgálatában

Évek óta komoly próbálkozások történtek különböző laboratóriumokban hatásos anti-limfokin szérumok előállítására. Anti-LK szérumot azonban addig nem érdemes termeltetni, amíg az illető LK nem elég homogén, és nem tiszta. A limfotoxin rendszer különböző tagjai közötti kapcsolat vizsgálatára az anti-LT szérumok előállítása és vizsgálata nyújtott lehetőséget, mert a LT esetében sikerült a tisztított, különböző limfotoxin-osztályok ellen nyúlban hatásos antiszérumot termelni. Ezzel a módszerrel a különböző molekuláris formák egymáshoz való kapcsolatát részben tisztázták, s a limfotoxin már előzőleg feltételezett hatására vonatkozó fontos tulajdonságát alátámasztották. A *IV. táblázat*ban egy több éves kísérleti periódus leglényegesebb, bizonyító erejű végeredményét mutatjuk be [86]. A vizsgálat a következőkben foglalható össze: humán eredetű LT osztályok, egyes alosztályok, és a tisztítatlan médium (amelyből a különböző formákat tisztították) ellen nyúl-

ban antiszérumokat termeltek. S antiszérumot nyertek humán Fab'_2 immunglobulin fragmentum ellen is. Az antiszérumok jelenlétében vizsgálták a különböző LT-osztályok, illetve alosztályok, nevezetesen a LT-komplex (Cx), az $alfa_1$, $alfa_2$, $alfa_3$, $béta_1$, $béta_2$, valamint a gamma limfotoxinok citotoxikus aktivitását.

A kísérleti adatok szerint a tisztítatlan médiumban mindegyik LT-osztály benne van, mert a médiummal szemben termelt szérum mindegyik tisztított molekuláris formával reagált. A LT-komplex minden antiszérummal reakcióba lépett, tehát a LT-komplexben minden LT-osztály reprezentálva van. A különböző LT-osztályok és alosztályok közötti kapcsolatra is lehet következtetni a keresztakciók hiányából, illetve erősségéből. Legdöntőbb a LT-hatás szempontjából az, hogy az anti-humán Fab'_2 szérummal kizárólag a LT-komplex reagált. A limfotoxin-komplexben minden LT-molekuláris forma megtalálható, azon kívül olyan fehérjét is tartalmaz, amely az immunglobulin Fab'_2 részével kapcsolódik. Más, a táblázatban nem közölt adatokból úgy tűnik, hogy a komplexnek mintegy 50 %-át képezi a „nem-LT-fehérje". A LT-komplexben az alfa, béta, gamma formák egymáshoz kapcsolódnak, és azon kívül kapcsolatban vannak egy „immunglobulinszerű" fehérjével. A komplex egy specifikus aggregátumnak tekinthető, s egyben ez a leghatásosabb molekuláris forma. Az „immunglobulinszerű" fehérje tulajdonképpen egy specifikus antigén receptor.

Az eredmények szerint feltételezhető, hogy az egyenként is hatásos alfa, béta, gamma típusok, amelyeknek antigén specifitásuk nincs, kapcsolódni tudnak egy antigén-specifikus komponenshez, s ezáltal kialakul egy olyan limfotoxin-komplex, amelynek citotoxikus tulajdonsága és antigén-specifitása is van.

De bármilyen target sejtet valamennyi LT molekuláris forma — nemspecifikusan — el tud pusztítani. Az alfa, béta, gamma osztályok hatékonysága és stabilitása különböző. Az új „limfotoxin-koncepció", amely összhangban áll az elmúlt évek kísérleti megfigyeléseivel, olyan lehetőséget vet fel, amely szerint a citotoxikus tulajdonságú molekulák nagymértékben specifikusak lehetnek, ha működésüket „immunglobulinszerű" receptor irányítja. A szemlélet alapján azonban a limfotoxin *in vivo* működésénél nagyon jól érvényesülő, hatékony szabályozást szükséges feltételezni, hiszen antigén ingerre a meghatározott típusú sejtekből szabadon mozgó, toxikus anyagok szabadulnak fel, amelyek a gazda számára rendkívül veszélyesek lehetnek. A limfotoxin citotoxikus tulajdonsága kapcsolatba hozható a T-sejtek antigéndependens, illetve antigén-independens citotoxikus tulajdonságával, s felvethető — amint erre az irodalomban több példa is van —, hogy a „killer"-sejtek vajon a limfotoxin közreműködésével, vagy nélküle fejtik-e ki hatásukat.

e) Enzimatikus karakter

Többen vizsgálták a limfotoxin enzimatikus tulajdonságát, s 1976-ban [35] kimutatták, hogy a 70 000 dalton molekulasúlyú formának ribonukleáz aktivitása van. Az állítást az indokolta, hogy kromatográfiásan a limfotoxin aktivitást nem lehetett elválasztani az enzimatikus hatástól, s mindkét aktivitást merkuro, réz, cink ionok együtt gátolták. Több megfigyelés azonban ellene szól a LT ribonukleáz voltának: a magas molekulasúly, valamint

az, hogy a béta- illetve a gamma-LT-ben ribonukleáz aktivitást soha sem észleltek. S ezen kívül a pankreász-ribonukleáz, a legérzékenyebb target sejtre, az L-929 sejtekre hatástalan. A limfotoxin enzimatikus tulajdonsága ezért nagyon kérdéses.

f) Milyen sejtből származhat a limfotoxin?

A limfotoxin eredete körül is sok ellentmondás van, de lehetséges, hogy ez a valóságot tükrözi. Az *in vitro* indukcióval produkált limfotoxin — az eredeti feltevéssel megegyezően — főként T-sejtekből származik, s a limfocita aktiválás első három napján csak T-sejtekből szabadul fel limfotoxin. Három nap után azonban a B-sejtek is termelik. A humán limfoblaszt kultúrák spontán LT termelése arra utal, hogy B-sejtek is képesek LT-t produkálni.

A limfokin termelésre vonatkozólag feltételezik, hogy az aktivált limfociták a limfokint folyamatosan termelik, s a szintézis közben a limfokin a sejtekből oldatba jut. Talán a limfotoxin az egyetlen LK, amelynek a jelenlétét az aktivált sejtek plazmamembránjában kimutatták [27]. Elképzelhető, hogy a sejtekben keletkezett és a membránba beépült limfotoxint vedli le folyamatosan a sejt.

g) Hatásmechanizmus

A limfotoxin hatásmechanizmusára mutató, aránylag csekély számú kísérleti megfigyelés szerint a LT a célsejtekbe nem jut be. A target sejt membránjához kapcsolódva indítja el azokat a folyamatokat, amelyek végül a sejt pusztulásához vezetnek. Ha a target sejtekben, a LT hatást megelőzően a fehérjeszintézist, illetve az ATP szintézist gátolják, akkor a sejtek limfotoxinnal szembeni érzékenysége fokozódik, és olyan sejtek is — pl. Hep2 sejtek —, amelyek érzéketlenek voltak a LT toxikus hatásával szemben, fogékonnyá válnak. Ezekből az adatokból arra lehet következtetni, mintha a célsejtek a limfotoxinnal való érintkezés közben megpróbálnák kijavítani a LT által okozott károkat a felületen.

3. A DNS szintézis inhibitor (IDS)

E fejezet összeállításánál az irodalomjegyzékben található 17, 33, 36, 37, 40—42, 67, 72—77 és 85 forrásokat használtuk.

A DNS szintézis inhibitor (IDS) biokémiai szempontból különösen figyelemreméltó tulajdonságokkal rendelkező limfokin; egyrészt ez a LK biztosan szerepet játszik a limfoid sejtek aktiválódásának, proliferációjának a szabályozásában, másrészt ennél a LK-nél eddig még senki sem tapasztalt molekuláris heterogenitást, tehát egységes fehérjének mutatkozik.

A DNS szintézis inhibitort *in vitro* aktivált limfociták médiumából nyerik. A humán IDS-t Con-A-val illetve PHA-val stimulált tonzilla sejtek médiumából izolálják a szokásos módszerekkel, gélszűréssel, ioncserélő kromatográfiával.

Az irodalmi adatok alapján biztosnak látszik, hogy az IDS-t egy meghatározott T-sejt szubpopuláció termeli aktivált állapotban.

Az IDS molekulasúlya 80 000 dalton.

Az IDS jelenlétében a target sejtek DNS szintézisének sebessége csökken. Hatását mitogénnel aktivált limfocita target sejtekkel, illetve szinkronizált vagy nem szinkronizált fibroblaszt kultúrákkal vizsgálják.

Az IDS termelés kinetikai elemzése szerint — ellentétben limfotoxinnal — a faktor a sejt aktiválás első 10 órájában nem keletkezik. Kimutatták, hogy az IDS szintézise a sejtekben egy jól definiálható periódusban, a sejtciklus G_1 fázisában, s annak is a végén indul meg, s a target sejtekre is ebben a fázisban hat. Amikor a target sejtekkel az IDS-t együtt inkubálják, az IDS hatása az első 12—14 órában nem mutatható ki, s csak 16—20 óra között csökken a jelzett DNS prekurzor inkorporációja alapján mért DNS szintézis sebessége. 24—48 óra között a sejtek gyakorlatilag nem szintetizálnak DNS-t a faktor jelenlétében. A hatás azonban nagyon koncentráció függő. Az inhibitor hatása reverzibilissé tehető 16 óráig, mert ha a sejtek mellől az inhibitort mosással eltávolítják, a gátlás nem jelentkezik.

Az *in vitro* inkubálás 16. órája után a DNS szintézis gátlása nem revertálható.

IDS jelenlétében a target sejtekben — a DNS szintézis gátlás megjelenésével egyidejűleg — a cAMP szint a normálishoz képest 2—3-szorosra emelkedik, s a két paraméter változása az inkubálás 16. órájától kezdve párhuzamosan halad.

Az IDS nagyon fontos tulajdonsága, amely a limfotoxintól való megkülönböztetésre is szolgál, hogy a target sejteket nem lizálja, tehát nem citotoxikus hatású.

Az IDS hatásmechanizmusa lényegében nem ismert. Egy munkacsoport megfigyelése szerint az IDS — *in vitro* körülmények között — gátolja az eukarióta DNS-polimerázokat, s ez szolgálhatna a gátlás magyarázatául. Ezeket az eredményeket azonban mások — bár nem cáfolták — de nem is erősítették meg.

Waksman szerint az IDS „multi-hit" kinetika szerint hat a target sejtre, azaz csak a sejt közvetlen környezetében és csak nagy koncentrációban hatásos.

A DNS szintézis inhibitort limfocita-kalonnak tartják egyes kutatócsoportok. A kalonoknak az a tulajdonságuk, hogy annak a sejtnek gátolják a DNS szintézisét, amelyből származnak. A kalonokat a sejtekből vagy szövetekből extrahálással nyerik. A kalonokkal való rokonságot az is alátámasztja, hogy a kalonok is a sejtciklus késői G_1 fázisában hatnak a target sejtre, s ugyanekkor a sejtekben a ciklikus AMP szint emelkedik.

A DNS szintézis inhibitort nagyon fontos reguláló tulajdonságú fehérjének tartják az immunválasz szabályozásában, s feltételezik, hogy egyéb, specifikusan ható reguláló faktorokkal együtt működve fejti ki hatását.

Megbeszélés, spekulációk

A részletesebben ismertetett három limfokinen kívül több, fontos biológiai funkcióval rendelkező faktort is ismerünk, amelyeket alaposabban vizsgáltak és jelenleg is tanulmányoznak. Ezek közül csak néhány ismertebbet sorolunk fel:

A fő hisztokompatibilitási komplex által korlátozott (restricted) specifikus faktorok közül (l. *II. táblázat*, A csoport):

— transzfer faktor (TF),
— antigén specifikus helper T-sejt faktor,
— antigén specifikus szupresszor T-sejt faktor.

A nem-specifikus faktorok közül (l. *II. táblázat*, C csoport):

— kemotaktikus faktorok (CF)
  makrofágokra ható (MCF)
  neutrofilekre ható (NCF)
  bazofilekre ható (BCF)
  eozinofilekre ható (ECF)
— mitogén faktor (MF)
— T-sejtet helyettesítő faktor (TRF)
— antitest gátló anyag (AIM)
— oldható, immunválasz szupresszor (SIRS)
— interferon (IF)
— bőrreaktív faktor (SRF)
— oszteoklaszt-aktiváló faktor (OAF)
— thymopoietin, thymosin

Azt hisszük, hogy a három, nem véletlenül kiemelt limfokin ismertetésén keresztül sikerült a limfokinek vizsgálatában jelentkező problémákat, kérdéseket bemutatni és érzékeltetni, s amelyeket — véleményünk szerint — az immunológia csak a biokémia kérdésfeltevésével, s a biokémia módszereinek szélesebb körű alkalmazásával tud megoldani és megválaszolni.

A limfokinek irodalma jelenleg szinte áttekinthetetlen. A limfokinekkel számos kutatócsoport foglalkozik, s vizsgálatuk egyik „legdivatosabb" téma a kísérletes immunológiában. Sok jel arra mutat, hogy az érdeklődés irántuk csak fokozódni fog általános biológiai jelentőségük miatt.

A limfokinek irodalmába való felületes bepillantás után összegzésképpen néhány gondolatot vetünk fel:

1. Jogosan kérdezhetjük, hogy a limfociták termelhetnek-e egyáltalán ilyen nagyszámú, különböző biológiai hatású fehérjét? — Nem valószínű. Elképzelhető, hogy több limfokin a biológiai mérési módszer, a kísérleti körülmények műterméke, műfaktor. Erre eddig több irodalmi adat is van: MIF-MAF; LT-PIF-CIF. Ezért biztosra vehető, hogy a mérési módszerek jobb megválasztásával, megfelelőbb alkalmazásával, illetve újabb biológiai, biokémiai paraméterek megtalálásával, s a különböző kutatócsoportok által azonosított limfokin preparátumok összehasonlításával csökkenteni lehet a limfokinek számát; s ez nagyon időszerűnek látszik.

2. A limfokinek *in vitro* körülmények között szintetizálódnak, a biológiai hatásukat is *in vitro* megfigyelések alapján vizsgálják. A limfokinek hatásának interpretálásában az jelenti a nehézséget, hogy biokémiai kritériumok szerint a limfokineket sem általában, sem egyénként nem lehet jellemezni, definiálni. Valójában tiszta, teljesen homogén LK-fehérjét nagyobb mennyiségben eddig még nem állítottak elő, s ezért az érdembeli jellemzés még hátra van. Ebből következik, hogy hatásuk, hatásmechanizmusuk vizsgálata is jelenleg sok nehézséggel jár. Tehát törekedni kell tiszta, egységes limfokin preparátumok nagyobb mennyiségben való előállítására. A humán eredetű limfokineknél

erre a limfoblasztoid sejtsorok, illetve műtéti termékek, pl. tonzilla sejtek alkalmazása nyújt lehetőséget. Nagyon nagy jelentősége van a limfokinek további vizsgálatában a hatásos, megfelelő antiszérumok nyerésének.

3. Három jobban jellemzett limfokinre (LT, MIF, CF) vonatkozó irodalmi adatok, s elsősorban e faktorok kémiai jellemzésével kapcsolatos eredmények figyelembevételével feltűnő és érdekes a nagymértékű molekuláris heterogenitás, amelyet számos laboratóriumban egymástól függetlenül is észleltek. S elgondolkoztató, hogy mindhárom limfokin esetében kimutattak 13 000—15 000 dalton molekulasúlyú formákat. Ezért biztosnak látszik, hogy mindhárom limfokin alegységekből felépülő, esetleg azonos szerkezeti elvek szerint szerveződő oligomér, illetve polimér molekula. S az is felvethető, hogy e három LK-nek van egy közös őse, amelyből a legkisebb molekulasúlyú, már különböző biológiai aktivitással bíró formák közvetlenül származtak. Egyébként a legkisebb molekulasúlyú formák labilisak, s biológiai hatásukat csak érzékeny módszerekkel lehet kimutatni; ez arra utalhat, hogy a biológiai hatás a magasabb molekulasúlyú formákká történő szerveződés során fokozódik.

4. Érdemes elgondolkozni a limfokinek eredetére, származására vonatkozóan a kemotaktikus hatású peptidekkel [3, 11, 44, 83] és a tuftsin-nal kapcsolatos [19, 20, 43] eredményeken. Mint e fejezetben láttuk, három különböző polimorfonukleáris sejtekre ható kemotaktikus hatású limfokin van. Külön faktort írtak le a neutrofil, az eozinofil és a bazofil granulocitákra. Néhány évvel ezelőtt bebizonyosodott, hogy egyes szintetikus tri- és tetrapeptidek ugyanolyan kemotaktikus hatást tudnak kifejteni a PMN-sejtekre, mint a fehérje természetű kemotaktikus faktorok. Két szintetikus tetrapeptid, val-gly-ser-gln, illetve ala-gly-ser-gln szelektíven csak az eozinofil sejtekre, a fmet-leu-phe pedig csak a neutrofil sejtekre hat. A bakteriális eredetű kemotaktikus faktorok vizsgálata, tisztítása vezetett a fmet-leu-phe tripeptid szintéziséhez, amelyben az N-terminuson a formilezett metionin még külön is figyelemre méltó. Fel lehet tételezni azt, hogy a kemotaktikus hatású fehérjemolekulából aktuálisan hasad le az a pár aminosavból álló peptid, amely lényegében a hatást kifejti.

A tuftsin egy olyan tetrapeptid — thr-lys-pro-arg —, amelynek limfokinszerű hatása van, mert a polimorfonukleáris sejteket fagocitózisra, pinocitózisra serkenti. Ezt a peptidet úgy fedezték fel, hogy a szérum gamma-globulinnak egy meghatározott frakciójáról bebizonyosodott, hogy a PMN-sejteket aktiválja, s kiderült, hogy ezt a hatást a fehérjékhez kovalensen kötött négytagú peptid — a fenti szekvenciájú — hordozza.

A kemotaktikus peptidek és a tuftsin esetében is a limfokin hatás nagyon egyszerű molekulára, fehérje hasadási termékre vezethető vissza.

Mindezek alapján feltételezhető, hogy egyes esetekben a limfokin molekulának csak egészen kis részlete is elégséges a biológiai aktivitáshoz. Lehetséges, hogy a fehérjerész csak hordozóként szerepel a limfokin molekulában és semmi köze sincs a biológiai hatáshoz.

Összefoglalás

A szerző rövid áttekintést ad 5 fejezetben a limfokinekről, elsősorban biokémiai szempontok alapján.

1. Az első fejezet a limfokin koncepció kialakulásával, átalakulásával és terminológiai kérdésekkel (citokin, limfokin, monokin) foglalkozik.

2. A második rész a limfokinek általános és közös tulajdonságait mutatja be:

— limfocita aktiválás a limfokin termelésre,
— limfokin termelés kinetikája,
— a limfokin fehérje (enzim?) karaktere,
— sejtforrások (T-, B- limfoid sejtsorok),
— limfokin receptor(ok),
— a limfokinek hatásának *in vitro* vizsgálata
— fiziko-kémiai vizsgálati módszerek, molekuláris heterogenitás.

3. A harmadik fejezet röviden érinti a limfokinek biológiai hatását és *in vivo* vizsgálatát.

4. A negyedik fejezet három limfokint mutat be.

4.1 MIF, MAF, LIF: hasonlóság, különbség, enzim-tulajdonság, receptor, molekuláris heterogenitás, MIF(MAF) hatására bekövetkező biokémiai események a makrofágokban.

4.2 LT: humán és állati eredetű limfotoxin osztályok és alosztályok, molekuláris heterogenitás, enzim tulajdonság, új elmélet (Granger) a limfotoxinok molekuláris szerveződéséről, LT-komplex és annak antigénspecifikus komponense, specifikus és nem-specifikus citotoxikus hatás.

4.3 IDS: a DNS szintézis inhibitor, mint fontos homeosztatikus regulátor a limfoid rendszerben, az IDS termelés kinetikája, cAMP szint változás IDS hatására.

5. Az ötödik fejezet néhány ismertebb limfokin felsorolása után a limfokin kutatásban jelentkező problémákat és a biokémiai karakterizálás szükségességét hangsúlyozza. Spekulációkat, hipotéziseket vet fel molekuláris heterogenitással, esetleges közös eredettel és a limfokin hatású kemotaktikus peptidekkel, illetve a tuftsinnal kapcsolatban.

IRODALOM

1. Altman, L. C. and Kirchner, H. (1974) Mononuclear leucocyte chemotaxis in the chicken. Definition of a phylogenetically specific lymphokine. *Immunology*, **26**, 393—405.
2. Amino, N., Linn, E. S., Pysher, T. J., Mier, R., Moore, G. E. and DeGroot, L. J. (1974) Human lymphotoxin obtained from established lymphoid cell lines: purufication, characterisation and inhibition by anti-immunoglobulins. *J. Immunol.*, **113**, 1334—1345.
3. Antoni, F., Nikolics, K. and Nagy, L. (1979) Biochemical factors of immunoregulation. *Proc. Biochem. Meet. Hung.*, In press.
4. Bendtzen, K. (1975) Inhibition of human leukocyte migration inhibitory factor (LIF) by α-L-fucose. *Acta Allergol.*, **30**, 327—339.
5. Bendtzen, K. (1977) Human leukocyte migration inhibitory factor (LIF). *Scand. J. Immunol.*, **6**, 133—140.
6. Bendtzen, K. and Palit, J. (1977) Brief report *in vitro* modulation of human leukocyte migration and migration inhibitory factor (LIF) activity by cyclic 3',5'-AMP and cyclic 3',5'-GMP. *Acta Pathol. et Microbiol. Scand.*, **85**, 78—80.
7. Bennet, B. and Bloom, B. R. (1968) Reactions *in vivo* and *in vitro* produced by a soluble substance associated with delayed-type hypersensitivity. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **59**, 756—762.
8. Bloom, B. R. and Bennet, B. (1966) Mechanism of a reaction *in vitro* associated with delayed-type hypersensitivity. *Science*, **153**, 80—82.
9. Bloom, B. R. and Glade, P. R. (eds.) (1971) *In vitro methods in cell-mediated immunity*. Academic Press, New York, pp: 3—93.

10. Bloom, B. R., Stoner, G., Gaffney, J., Shevach, E. and Green, I. (1975) Production of migration inhibitory factor and lymphotoxin by non-T cells. *Eur. J. Immunol.*, **5**, 220—223.
11. Boswell, R. N., Austen, K. F. and Goetzl, E. J. (1978) Intermediate molecular weight eosinophil chemotactic factors in rat peritoneal mast cells: immunologic release, granule association and demonstration of structural heterogeneity. *J. Immunol.*, **120**, 15—20.
12. Churchill, W. H. and Wong, C. (1978) The role of cell surface fucose and sialic acid in lymphocyte mediator induced macrophage cytotoxicity. *Fed. Proc. Am. Soc. Exp. Biol.*, **37**, 1273
13. Cohen, S., Ward, P. A. and Bigazzi, P. E. (1974) *In:* McCluskey, R. T. and Cohen, S. (eds.): *Mechanism of coll-mediated immunity.* Wiley, New York, pp. 331—358.
14. Cohen, S. and Yoshida, T. (1977) Supression of B cell MIF production by T cells and soluble T cell derived factors. *J. Immunol.*, **119**, 719—721.
15. David, J. R. (1966) Delayed hypersensitivity *in vitro:* its mediation by cell-free substances formed by lymphoid cell-antigen interaction. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **56**, 72—77.
16. David, J. R. and Remold, H. G. (1976) *In:* Nelson D. S. (ed.): *Immunobiology of the macrophage.* Academic Press, New York, pp. 401—423.
17. Durkin, H. G., Carboni, J. M. and Waksman, B. H. (1978) Antigen-induced increase in migration of large cortical thymocytes (regulatory cells?) to the marginal zone and red pulp of the splenn. *J. Immunol.*, **121**, 1075—1081.
18. Eifel, P., Bilingsley, A. and Lucas, Z. J. (1979) Rapid killing of viral-infected L cells by α-lymphotoxin. *Cell. Immunol.*, **47**, 197—203.
19. Fidalgo, V. and Najjar, V. A. (1967) The physiological role of the lymphoid system. VI. The stimulatory effect of leucophilic γ-globulin (leucokinin) on the phagocytic activity of human polymorphonuclear leukocyte. *Biochem.*, **6**, 3386—3392.
20. Fridkin, M., Stabinsky, Y., Zakuth, V. and Spirer, Z. (1977) Tuftsin and some analogs: synthesis and interaction with human polymorphonuclear leukocytes. *Biochem. Biophys. Acta*, **496**, 203—211.
21. Gately, M. K. and Mayer, M. M. (1974) The molecular dimensions of guinea pig lymphotoxin. *J. Immunol.*, **112**, 168—177.
22. Granger, G. A. and Williams, T. W. (1968) Lymphocyte cytotoxicity *in vitro:* activation and release of a cytotoxic factor. *Nature*, **218**, 1253—1254.
23. Granger, G. A., Moore, G. E., White, J. G., Matzinger, P., Sundsmo, J. S., Shupe, S., Kolb, W. P., Kramer, J. and Glade, P. R. (1970) Production of lymphotoxin and migration inhibitory factor by established human lymphocytic cell lines. *J. Immunol.*, **104**, 1476—1485.
24. Granger, G. A., Yamamoto, R. S., Fair, D. S. and Hiserodt, J. C. (1978) The human LT system. I. Physical-chemical heterogeneity of LT molecules released by mitogen activated human lymphocytes *in vitro. Cell. Immunol.*, **38**, 388—402.
25. Hessinger, D. A., Daynes, R. A. and Granger, G. A. (1973) Binding of human lymphotoxin to target-cell membranes and its relation to cell-mediated cytodestruction. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **70**, 3082—3086.
26. Hiserodt, J. C. and Granger, G. A. (1976) *In vitro* lymphocyte cytotoxicity. II. Unstable lymphotoxins (β-LT) secreted and inactivated by mitogen-stimulated human lymphocytes. *Cell. Immunol.*, **26**, 211—216.
27. Hiserodt, J. C., Ware, C. F., Harris, P. C. and Granger, G. A. (1977) Identification of membrane-associated lymphotoxin (LT) on mitogen-activated human lymphocytes using heterologous anti-LT antisera *in vitro. Cell. Immunol.*, **34**, 326—339.
28. Hiserodt, J. C., Yamamoto, R. S. and Granger, G. A. (1978) The human LT system. III. Characterisation of a high molecular weight LT class (Complex) composed of the various smaller MW LT classes and subclasses in association with Ig-like molecules. *Cell. Immunol.*, **38**, 417—433.
29. Hiserodt, J. C., Yamamoto, R. S. and Granger, G. A. (1978) The human LT system. IV. Studies on the large LT complex class: association of these molecules with specific antigen binding receptor(s) *in vitro. Cell. Immunol.*, **41**, 380—396.
30. Hiserodt, J. C., Tiango, G. J. and Aranger, G. A. (1979) The LT system in experimental animals. II. Physical and immunological characteristics of molecules with LT activity rapidly released by murine lymphoid cells activated on lectin-coated allogeneic monolayers *in vitro. J. Immunol.*, **123**, 317—324.
31. Hiserodt, J. C., Tiango, G. J. and Granger, G. A. (1979) The LT system in experimental animals. IV. Rapid specific lysis of ^{51}Cr-labeled allogeneic target cells by highly unstable high M. W. lymphotoxin-receptor complex(es) released *in vitro* by activated alloimmune murine T lymphocytes. *J. Immunol.*, **123**, 332—341.

32. JEFFES, E. W. B. and GRANGER, G. A. (1976) Relationship of CIF, LT and PIF released *in vitro* by activated human lymphocytes. II. A further functional comparison of LT and PIF activities on HeLa and L-929 target cells. *J. Immunol.*, **117,** 174—179.
33. JEGASOTHY, B. V., PACHNER, A. R. and WAKSMAN, B. H. (1976) Cytoline inhibition of DNA synthesis. Effect on cyclic adenosine monophosphate in lymphocytes. *Science*, **193,** 1260—1262.
34. KLIMEL, G. R., DAY, K. D. and LUCAS, D. O. (1975) Differential production of interferon and lymphotoxin by human tonsil lymphocytes. *Cell. Immunol.*, **20,** 187—196.
35. LEE, S. C. and LUCAS, Z. J. (1976) Regulatory factors produced by lymphocytes: I. The occurence of multiple α-lymphotoxins associated with ribonuclease activity. *J. Immunol.*, **117,** 283—291.
36. LEE, S. C. and LUCAS, Z. J. (1978) Properties of an inhibitor of DNA synthesis in supernatants of activated lymphocytes. *Cell. Immunol.*, **39,** 250—259.
37. LEE, S. C. and LUCAS, Z. J. (1977) Regulatory factors produced by lymphocytes. II. Inhibition of cellular DNA synthesis associated with a factor inhibiting DNA polymerase-α-activity. *J. Immunol.*, **118,** 88—97.
38. LEONARD, E. J. and MELTZER, M. S. (1976) Characterisation of mouse lymphocyte-derived chemotactic factor. *Cell Immunol.*, **26,** 200—210.
39. LIU, D. Y., HIGGINS, T. J., PETSCHEK, K. D., REMOLD, H. G. and DAVID, J. R. (1978) Fucose and sialic acid are required on the macrophage for the response to migration inhibitory factor and on macrophage glycolipids for their ability to enhance the macrophage response. *Fed. Proc. Am. Soc. Exp. Biol.*, **37,** 1273.
40. NAMBA, Y. and WAKSMAN, B. H. (1975) Regulatory substances produced by lymphocytes. II. Lymphotoxin in the rat. *J. Immunol.*, **115,** 1018—1022.
41. NAMBA, Y. and WAKSMAN, B. H. (1976) Regulatory substances produced by lymphocytes. III. Evidence that lymphotoxin and proliferation inhibitory factor are identical and difference from the inhibitor of DNA synthesis. *J. Immunol.*, **116,** 1140—1144.
42. NAMBA, Y., JEGASOTHY, B. V. and WAKSMAN, B. H. (1977) Regulatory substances produced by lymphocytes. V. Production of inhibitor of DNA synthesis (IDS) by proliferating T lymphocytes. *J. Immunol.*, **118,** 1379—1384.
43. NISHIOKA, K., CONSTANTOPOULOS, A., SATOH, P. S., MITCHELL, W. and NAJJAR, V. A. (1973) Characteristics and isolation of the phagocytosis-stimulating peptid tuftsin. *Biochem. Biophys. Acta*, **310,** 217—229.
44. O'DEA, R. F., VIVEROS, O. H. and AXELROD, J. (1978) Rapid stimulation of protein carboxymethylation in leukocytes by a chemotactic peptide. *Nature*, **272,** 462—464.
45. PAPAGEORGIOU, P. S., HENLEY, W. L. and GLADE, P. R. (1972) Production and characterization of migration inhibitory factor(s) (MIF) of established lymphoid and non-lymphoid cell lines, *J. Immunol.*, **108,** 494—504.
46. PETER, J. B. and DAWKINS, R. L. (1971) Target cell lysis mediated by soluble cytotoxin released from stimulated lymphocytes. *Nature*, **232,** 79—80.
47. PETER, J. B., STRATTON, J. A., STEMPEL, K. E., YU, D. and CARDIN, C. (1973) Characteristics of a cytotoxin ("lymphotoxin") produced by stimulation of human lymphoid tissue. *J. Immunol.*, **111,** 771—782.
48. PICK, E., HONIG, S., GRIFFEL, B. and GRUNSPANSWIRSKY, A. (1976) Does migration inhibitory factor (MIF) act by promoting tubulin polymerisation ? *Cell. Immunol.*, **27,** 339.
49. POSTE, F. (1975) Production of macrophage migration inhibitory factor(s) (MIF) by virus transformed cells. *Exp. Cell. Res.*, **92,** 283—290.
50. POULTER, L. W. and TURK, J. L. (1975) Studies on the effect of soluble lymphocyte products (lymphokines) on macrophage physiology. Cytochemical changes associated with activation. *Cell. Immunol.*, **20,** 25—38.
51. REMOLD, H. G. (1973) Requirement for α-L-fucose on the macrophage membrane receptor for MIF. *J. Exp. Med.*, **138,** 1065—1076.
52. REMOLD, H. G. (1977) Chemical treatment of macrophages increases their responsiveness to migration inhibitory factor (MIF). *J. Immunol.*, **118,** 1—5.
53. REMOLD, H. G. and MEDNIS, A. D. (1977) Two migration inhibitory factors with different chromatographic behaviour and isoelectric points. *J. Immunol.*, **118,** 2015—2019.
54. REMOLD, H. G. and MEDNIS, A. D. (1978) A macrophage associated serin proteinase inactivates pH 5-migration inhibitory factor. *Fed. Proc. Am. Exp. Biol.*, **37,** 1590.
55. ROCKLIN, R. E., MACDERMOTT, R. P., CHESS, L., SCHLOSSMAN, S. F. and DAVID, J. R. (1974) Studies on mediator production by highly purified human T and B lymphocytes. *J. Exp. Med.*, **140,** 1303—1316.
56. ROCKLIN, R. E. (1976) Evidence that human leukocyte inhibitory factor (LIF) is an esterase. *Cell. Immunol.*, **27,** 338—339.

57. Rocklin, R. E. (1976) Role of monosacharides in the interaction of two lymphocyte mediators with their target cells. *J. Immunol.*, **116**, 816—820.
58. Rocklin, R. W. and Rosenthal, A. S. (1977) Evidence that human leukocyte inhibitory factor (LIF) is an esterase. *J. Immunol.*, **119**, 249—252.
59. Rosenau, W. and Tsoukas, C. D. (1976) Lymphotoxin. A review and analysis. *Amer. J. Pathol.*, **84**, 580—596.
60. Rosenau, W., Stites, D. and Jemtrud, S. (1979) Elaboration of lymphotoxin by freshly isolated human T lymphocytes and continuous lymphoid-cell lines. *Cell. Immunol.*, **43**, 235—244.
61. Russel, S. W., Rosenau, W., Lee, J. C. (1972) Cytolysis induced by human lymphotoxin. *Amer. J. Pathol.*, **69**, 103—111.
62. Sorg, C. and Geczy, C. L. (1978) Antibodies to guinea pig lymphokines. VII. Reactivity with products of lymphoid and non-lymphoid cells. *J. Immunol.*, **121**, 1199—1205.
63. Synderman, R., Meadows, L. and Amos, D. B. (1977) Characterisation of human chemotactic lymphokine production induced by mitogens and mixed leukocyte reactions using a new microassay. *Cell. Immunol.*, **30**, 225—235.
64. T. Szabó, M. and Antoni, F. (1975) A "cytotoxic" factor released from unactivated human lymphocytes. *Acta. Biochim. Biophys. Acad. Sci. Hung.*, **10**, 31—36.
65. T. Szabó, M., Antoni, F. and Hrabák, A. (1978) Effect of released lymphocyte proteins on human lymphocytes *in vitro*. *Acta Biochim. Biophys. Acad. Sci. Hung.*, **13**, 13—21.
66. T. Szabó, M., Hrabák, A., Csuka, I. and Antoni, F. (1978) Effect of released lymphocyte proteins on human lymphocytes *in vitro*. II. Protein synthesis of nylon-wool separated cells in the presence of proteins derived from lymphocytes. *Acta Biochim. Biophys. Acad. Sci. Hung.*, **13**, 269—277.
67. T. Szabó, M., Hrabák, A. and Antoni, F. (1979) An inhibitory factor of DNA synthesis derived from the medium of short time incubated human lymphocytes. *Immunol. Letters*, **1**, 115—119.
68. Trivers, G., Braungart, D. and Leonard, E. J. (1976) Mouse lymphotoxin. *J. Immunol.*, **117**, 130—135.
69. Tsoukas, C. D., Rosenau, W. and Baxter, J. D. (1976) Cellular receptors for lymphotoxin: correlation of binding and cytoxicity in sensitive and resistant target cells. *J. Immunol.*, **116**, 184—187.
70. Tubergen, D. G., Feldman, J. D. Pollock, E. M. and Lerner, R. A. (1972) Production of macrophage migration inhibition factor by continous cell lines. *J. Exp. Med.*, **135**, 255—266.
71. Wahl, S. M., Wilton, J. M., Rosentreich, D. L. and Oppenheim, J. J. (1975) The role of macrophages in the production of lymphokines by T and B lymphocytes. *J. Immunol.*, **114**, 1296—1301.
72. Wagshal, A. B., Jegasothy, B. V. and Waksman, B. H. (1978) Regulatory substances produced by lymphocytes. VI. Cell cycle specificity of inhibitor of DNA synthesis action in L cells. *J. Exp. Med.*, **147**, 171—181.
73. Wagshal, A. B. and Waksman, B. H. (1978) Regulatory substances produced by lymphocytes. VIII. Cell cycle specificity of inhibitor of DNA synthesis (IDS) action in lymphocytes. *J. Immunol.*, **121**, 966—972.
74. Waksman, B. H. and Namba, Y. (1976) Commentary on soluble mediators of immunologic regulation. *Cell. Immunol.*, **21**, 161—176.
75. Waksman, B. H. (1977) Specific and non-specific suppressor T-cell factors derived from thymic lymphocytes. *Cell. Immunol.*, **30**, 189—191.
76. Waksman, B. H. and Wagshal, A. B. (1978) Commentary: lymphocyte functions acted on by immunoregulatory cytokines. Significance of cell cycle. *Cell. Immunol.*, **36**, 180—196.
77. Waksman, B. H. (1979) Commentary: cellular hypersensitivity and immunity: conceptual changes in last decade. *Cell. Immunol.*, **42**, 155—169.
78. Waldman, H. and Munro, A. (1974) T cell-dependent mediator in the immune response. II. Physical and biological properties. *Immunology*, **27**, 53—64.
79. Walker, S. M. and Lucas, Z. J. (1974) Cytotoxic activity of lymphocytes IV. Preparation of heterologous antibody to human lymphotoxin. *J. Immunol.*, **113**, 813—823.
80. Walker, S. M., Lee, S. C. and Lucas, Z. J. (1976) Cytotoxic activity of lymphocytes. VI. Heterogeneity of cytotoxins in supernatans of mitogen-activated lymphocytes. *J. Immunol.*, **116**, 807—815.
81. Ward, P. A., Cohen, S. and Flanagan, T. D. (1972) Leukotactic factors elaborated by virus-infected tissues. *J. Exp. Med.*, **135**, 1095—1103.
82. Werney, D., Maier, G. and Lommel, R. (1973) A factor reducing protein synthesis from Ehrlich ascites cells. *Eur. J. Cancer*, **2**, 819—824.

83. Williams, L. T., Synderman, R., Pike, M. C. and Lefkovitz, R. J. (1977) Specific receptor sites for chemotactic peptides on human polymorphonuclear leukocytes. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **74**, 1204—1208.
84. Williams, T. W. and Granger, G. A. (1968) Lymphocyte *in vitro* cytotoxicity: lymphotoxins of several mammalian species. *Nature*, **219**, 1076—1077.
85. Wolf, R. L., Whitsed, H., Rosen, F. and Merler, E. (1978) A soluble inhibitor of B and T cell proliferation and antibody synthesis produced by dividing human T cells. *Cell. Immunol.*, **36**, 231—241.
86. Yamamoto, R. S., Hiserodt, J. C., Lewis, J. E., Carmack, C. E. and Granger, G. A. (1978) The human LT system. II. Immunological relationship of LT molecules released by mitogen activated human lymphocytes *in vitro*. *Cell. Immunol.*, **38**, 403—416.
87. Yamamoto, R. S., Hiserodt, J. C. and Granger, G. A. (1979) The human LT system. V. A comparison of the relative lytic effectiveness of varoius MW human LT classes on ^{51}Cr-labeled allogeneic target cell *in vitro:* anhanced lysis by LT complexes associated with Ig-like receptor(s). *Cell. Immunol.*, **45**, 261—275.
88. Yano, K. and Lucas, Z. J. (1978) Cytotoxic activity of lymphocytes. VII. Cellular origin of α-lymphotoxin. *J. Immunol.*, **120**, 385—394.
89. Yoshida, T., Sonozaki, H. and Cohen, S. (1973) The production of migration inhibition factor by B and T cells of the guinea pig. *J. Exp. Med.*, **138**, 784—797.
90. Yoshida, T., Bigazzi, P. and Cohen, S. (1975) Biologic and antigenic similarity of virus induced migration inhibition factor to conventional, lymphocyte derived migration inhibition factor. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **73**, 1641—1644.
91. Yoshida, T., Bigazzi, P. E. and Cohen, S. (1975) The production of anti-guinea pig lymphokine antibody. *J. Immunol.*, **114**, 688—691.
92. Yoshida, T., Kuratsuji, T. A., Takada, A., Takada, Y., Minovada, J. and Cohen, S. (1976) Lymphokine-like factors produced by human lymphoid cell lines with B or T cell surface markers. *J. Immunol.*, **117**, 548—554.

LYMPHOKINES
(A BIOCHEMICAL VIEW)

Maria T. Szabó

1st Institute of Biochemistry, Semmelweis University of Medicine, Budapest, Hungary

A general description of lymphokines mainly from the biochemical point of view is aimed at in this rewiew. The material is discussed in five sections.

1. The original concept of lymphokines and its later transformations as well as the present attitude to this problem are summerized in the first section. Terms cytokine, lymphokine, monokine (CK, LK, MK) are explained.

2. The second section deals with the general characterization of LK-s:
- — activation of lymphocytes for the production of LK-s;
- — kinetics of LK production;
- — protein (enzyme?) character of LKs;
- — *in vitro* studies and determinations of the actions of LKs;
- — physico-chemical properties, physico-chemical methods applied in LK research;
- — molecular heterogeneity of LKs;
- — origin of LKs (T, B and established lymphoid cells);
- — human and animal lymphoid cells as LK source.

3. Biological effects of LKs and their *in vivo* investigations are shortly mentioned in section 3.

4. In section 4. three different LKs are discussed in detail on the basis of present (biochemical) data.

4.1. MIF, MAF, LIF: identity, dissimilarity, enzyme character, receptors, biochemical changes observed in macrophages as consequences of MIF (MAF) action, molecular heterogeneity.

4.2. LT: human and murine LT-classes, membrane-bound LT, enzyme character; the new theory on the molecular organisation of lymphotoxins (Granger et al.), the antigen-specific component of LT-complex, its antigen-receptor nature.

4.3. IDS: DNA synthesis inhibitor as an important homeostatic regulator in lymphoid cells; kinetics of IDS production, the effect of IDS on the cAMP level in the target cells.

5. In section 5. some possible ideas of a rather speculative character are presented in connection with:

— the molecular heterogeneity of some LKs,
— their common origin (MIF, LT, CF),
— chemotactic peptides and tuftsin as LK-like agents.

2 figures, 4 tables and 92 references are included in the text.

Biológia, **28**, 1980. 77—95

RADIOIMMUNO-ELJÁRÁSOK MÉRÉSI MEGBÍZHATÓSÁGÁNAK STATISZTIKAI ELEMZÉSE

PAKSY ANDRÁS

Semmelweis Orvostudományi Egyetem Biometriai és Klinikai Epidermiológiai Csoportja, Budapest

Beérkezett: 1980. március 20-án

Kulcsszavak: RIA-statisztikai analízis, quality control

Előző közleményünkben a radioimmuno-eljárások kalibrációs görbéinek statisztikai elemzési módszereit írtuk le [11]. Jelen munkánkban a mérési megbízhatóság, a minőségellenőrzés matematikai statisztikai módszereit ismertetjük szorosan támaszkodva az előző közleményben ismertetett matematikai eljárásokra.

A radioimmunoassayk mérési megbízhatóságának vizsgálata legnagyobbrészt megegyezik a klinikai kémiában használatos módszerekkel [8, 10], azonban a hiba-paraméterek számításában és értelmezésében jelentős eltérések vannak, így mindenképpen indokolt, hogy áttekintsük az itt alkalmazott módszereket [9, 12, 15, 37].

A mérés megbízhatóságát az alábbi paraméterekkel jellemezzük:

— pontosság (reprodukálhatóság, precisio)
— torzítás
— accuracy
— a kimutathatóság határa (érzékenység, detection limit).

A pontosság számítása

A pontosság a véletlen hibák okozta eltérések nagyságát fejezi ki, a párhuzamos mérések szórása alapján adjuk meg. A kalibrációs görbe jellegéből adódóan azonban a mérés pontossága jelentős módon változik a dózis, a koncentráció függvényében. Így a mérési tartomány közepére vonatkoztatott pontosság értéke nem fejezi ki reálisan a vizsgált RIA vagy IRMA reprodukálhatóságának mértékét. A pontosság mértékére tehát a mérési tartomány legalább 3 pontján végzett paralel mérések adnak megfelelő felvilágosítást. A mérés pontosságát, hasonlóan mint a klinikai kémiában, az egy mérési sorozatban végzett párhuzamos minták szórásával (s_x), illetve variációs koefficiensével adjuk meg (V_k). A radioimmuno-eljárások pontossága általában 1—6 % között mozog a mérési tartomány legnagyobb részében, a széli (igen alacsony és igen magas dózis értékeknél) jelentősen romlik, meghaladhatja a 10—15 %-ot is.

Példa: a T_3-RIA pontosságát az alacsony, közepes és magas koncentrációnál vizsgáltuk. Mindhárom mérési pontban 8—8 párhuzamos mérést végeztünk, azaz ugyanazon mintából 8—8 paralel meghatározást végeztünk. A mérési eredményekből számított pontosság értéket az *I. táblázat*ban tüntettük fel.

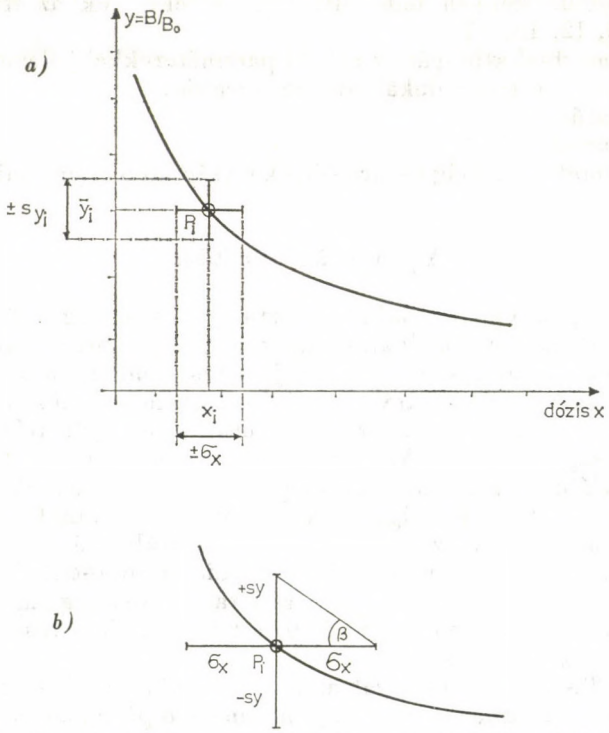
I. táblázat

T_3-RIA pontosságának vizsgálata

Table 1. Reproducibility of T_3 RIA

	A vizsgált minta koncentrációja		
	alacsony	közepes	magas
A párhuzamos mérések száma, n	8	8	8
A mérések középértéke, $\bar{x}$	0,81 nmol/l	2,6 nmol/l	6,1 nmol/l
A mérések szórása, s_x	0,08 nmol/l	0,083 nmol/l	0,79 nmol/l
Variációs koefficiens, V_k	9,9 %	3,2 %	13,1 %

Amint a táblázatból látható a pontosság jelentős mértékben változik a mérési tartományban. A szélső értékek felé a megbízhatóság jelentősen romlik, ezért a mérési eredményeket legjobb, ha a megbízhatósági határaikkal együtt feltüntetve közöljük. (A megbízhatósági határok számítását l. előző közleményben [11].)



1. ábra. A radioimmuno-eljárások pontosságának számítása

Fig. 1. Calculation of the reproducibility in radioimmunoassay

A mérés pontosságát RODBARD szerint [13] a kalibrációs görbe adatai alapján is számíthatjuk. Elvét az *1. ábra* alapján mutatjuk be.

Az *1.a ábrán* a dózis-válasz görbét ábrázoltuk. A válasz paraméter ($y = B/B_0$) párhuzamos mérés alapján meghatározott átlagértékéhez ($\bar{y}_i$) egy x_i dózis érték számítható a kalibrációs egyenlet alapján. A válasz paramétert hibával mérjük, melynek értéke s_y. Azt kell megállapítanunk, hogy ez a hiba hogyan jelentkezik a dózis becslésében, azaz mekkora lesz a σ_x kalibrációs görbe P-pontjában. Az *1.b ábrán* kinagyítva ábrázoltuk a s_y-hoz tartozó σ_x hiba által meghatározott derékszögű háromszöget:

$$\frac{s_y}{\sigma_x} = \beta \qquad [1]$$

β a kalibrációs egyenlet iránytangense a P(x, y) pontban.
Ebből:

$$\sigma_x = \frac{s_y}{|\beta|} \qquad [2]$$

A kalibrációs görbe meredeksége a görbe pontjain erősen változik, értékét a differenciál-hányados adja meg:

$$\beta = \frac{dy}{dx} \qquad [3]$$

így a hiba:

$$\sigma_x = \frac{s_y}{dy/dx} \qquad [4]$$

A kalibrációs egyenletet logit-log modell alapján számítva (l. előző közleményt: [11]) a kalibrációs egyenes egyenlete:

$$Y = \text{logit } y = a + b \cdot x \qquad [5]$$

ahol:

$$y = B/B_0 \qquad x = \log X \text{ (dózis)}$$

$$dY/dx = b \qquad [6]$$

$$dy/dx = b \cdot (1-y) \cdot (y) \qquad [7]$$

$$\beta = dy/dX = \frac{b \cdot (1-y) \cdot (y)}{2{,}303 \cdot X} \qquad [8]$$

X = a dózis transzformálatlan értéke.

A [8] összefüggés alapján a kalibrációs görbe tetszőleges pontjához tudjuk σ_x-et, azaz a mérési pontosságot számolni.

A variációs koefficiens számítása:

$$V_k = \frac{\sigma_x}{X} \qquad [9]$$

azaz

$$V_k = \frac{s_y}{\beta \cdot X} \qquad [10]$$

II. táblázat

TSH-radioimmunoassay mérési eredményei és a válaszparaméterek, ill. dózis transzformált értékei (logit-log modell)

Table 2. TSH—RIA. Doses, counts and logit-log metameters.

Dózis μE/ml X	Válasz cpm	B/B_0	Transzformált értékek	
			x = lg dózis	y = logit B/B_0
0	6051 5986 6146	$\overline{B}_0 = 6061$ $JB_0 = 81$	—	—
0,5	5903 5461 5831	97,4 90,1 96,2	—0,301	3.623 2,208 3,231
1,0	5443 5546 5734	89,8 91,5 94,6	0,000	2,175 2,376 2,863
2,0	4849 5055 5006	80,0 83,4 82,6	0,301	1,386 1,614 1,558
4,0	3776 4012 3958	62,3 66,2 65,3	0,602	0,502 0,672 0,632
8,0	2812 2873 2618	46,4 47,4 43,2	0,903	—0,144 —0,104 —0,274
16,0	1988 2000 1982	32,8 33,0 32,7	1,204	—0,717 —0,708 —0,722
32,0	1297 1024 1146	21,4 16,9 18,9	1,505	—1,301 —1,593 —1,457

Total aktivitás: $T = 15\ 371$ cpm $s_T = 133$ cpm.

$$\frac{B_0}{T} = \frac{6061}{15371} = 0{,}394 \quad 39{,}4\%$$

Az s_y értékét minden dózisra (X-pontra) meg kell állapítanunk. Erre a válasz-paraméter varianciájának dózisfüggőségét kifejező összefüggést használjuk fel, pl. a

$$s_y^2 = v \cdot y^J \qquad \text{(l.: [11])}$$

Példa: az előző dolgozatunkban közölt példát használjuk fel a pontosság számításának ismertetésére. TSH-RIA kalibrációs adatait, a válaszparamétereket a *II. táblázat*ban közöljük.

III. táblázat

TSH-RIA precízió-profil számításának eredményei

Table 3. TSH-RIA precision-profile data

X μE/ml	$y = B/B_0$	$1 - y$	β	s_y	σ_x	V_k
0,5	0,946	0,054	0,1033	0,0170	0,16	32,9%
1,0	0,920	0,080	0,0744	0,0151	0,20	20,2%
2,0	0,820	0,180	0,0746	0,0116	0,16	7,8%
4,0	0,646	0,354	0,0578	0,0089	0,15	3,8%
8,0	0,457	0,543	0,0314	0,0072	0,23	2,9%
16,0	0,328	0,672	0,0138	0,0062	0,45	2,8%
32,0	0,191	0,809	0,0049	0,0050	1,02	3,2%

A logit-log modell alapján [*2, 4, 5, 6, 14*] súlyozott regresszió számítással számított kalibrációs egyenes egyenlete (l. előző közlemény [*27*] összefüggést):

$$Y = 2{,}0588 - 2{,}3281 \cdot x \qquad [11]$$

az iránytangens értéke: $b = -2{,}3281$

A válasz-paraméter szórásának dózis függőségét a következő összefüggés szerint vizsgáltuk (előző közlemény [*20*] és [*21*] összefüggése):

$$s^2_{B/B_0} = \left(\frac{y}{1-y}\right)^J \qquad [12]$$

$$\log s^2_{B/B_0} = v + J \cdot \text{logit } y \qquad [13]$$

Példánk esetében ennek számszerű értéke:

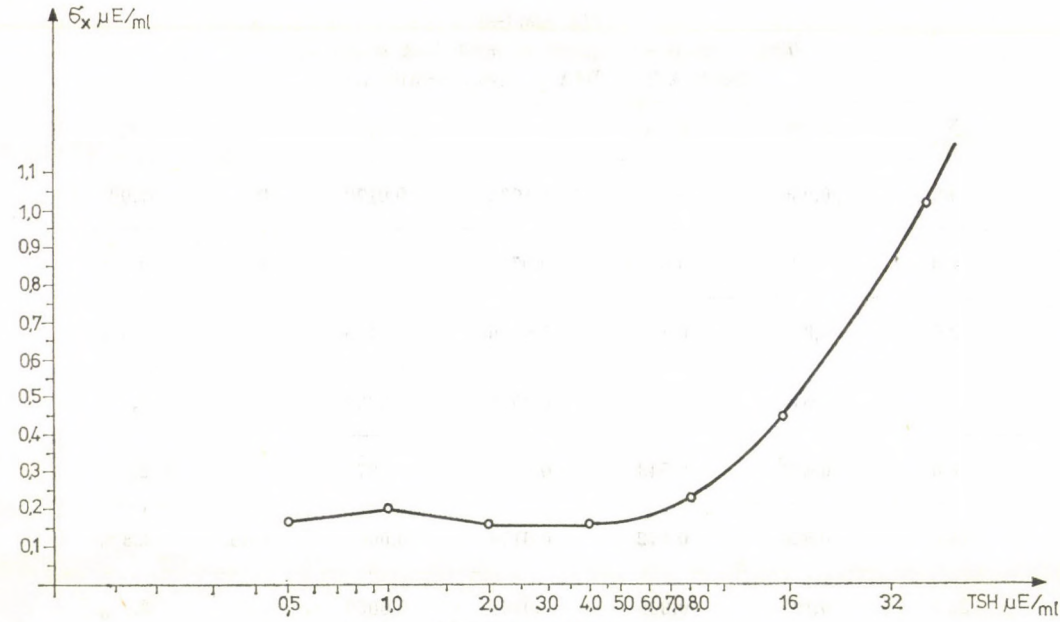
$$\log s^2_{B/B_0} = -0{,}246 + 0{,}247 \cdot y \qquad [14]$$

(ahol: $y = \text{logit } B/B_0$)

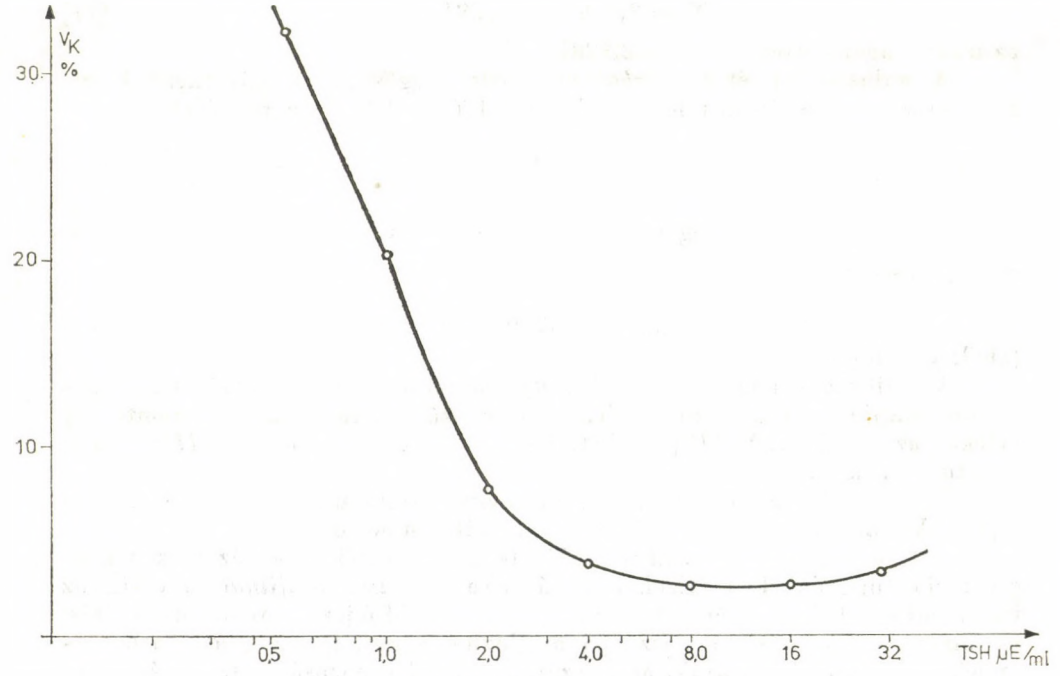
A kalibrációs adatok *(II. táblázat)*, valamint a [*11*] és [*14*] összefüggés adatai alapján minden dózis értékhez hozzárendelhetünk egy pontosság értéket, azaz σ_x [*4*] és V_k [*10*] értéket. A számítások eredményeit a *III. táblázat*-ban tüntettük fel.

A gyakorlatban inkább a V_k értékekkel fejezzük ki a radioimmunoeljárások pontosságát, a σ_x értékét csak ritkábban adjuk meg.

A *2. ábrán* a σ_x, a *3. ábrán* a TSH-RIA V_k értékeit ábrázoltuk a koncentráció függvényében. Ezeket az ábrákat *precízió profilnak* nevezik az irodalomban. Tulajdonképpen ez a pontosság profil fejezi ki reálisan a mérési tartományban a mérés statisztikai megbízhatóságát, így a gyakorlatban is ennek számítását javasoljuk. Mikroszámítógép alkalmazásával számítása nem jelent különösebb problémát.



2. ábra. **TSH-RIA precízió-profil (σ_x)**
Fig. 2. **TSH-RIA precision profil (σ_x)**



3. ábra. **TSH-RIA precízió-profil (V_k)**
Fig. 3. **TSH-RIA precision profil (c. o. v.)**

A torzítás számítása

A torzítás a rendszeres hibák nagyságát és irányát fejezi ki. A szisztémás hiba nagyságát csak nagy pontosságú standard készítmény mérési sorozata alapján állapíthatjuk meg. Sok esetben még nem rendelkezünk ezekkel a standard készítményekkel, így a szisztémás hiba megállapítása nem lehetséges.

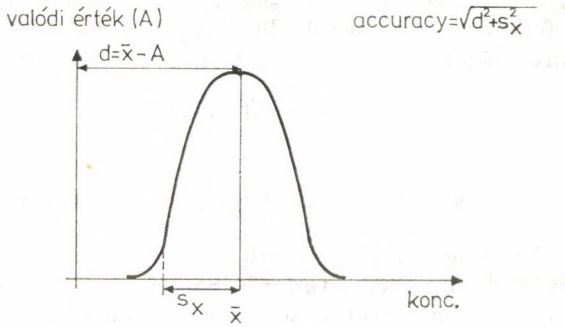
A torzítás nagysága:

$$d = \bar{x} - A \qquad [15]$$

ahol: $\bar{x}$ a mérések átlaga, A a standard készítmény koncentrációja.

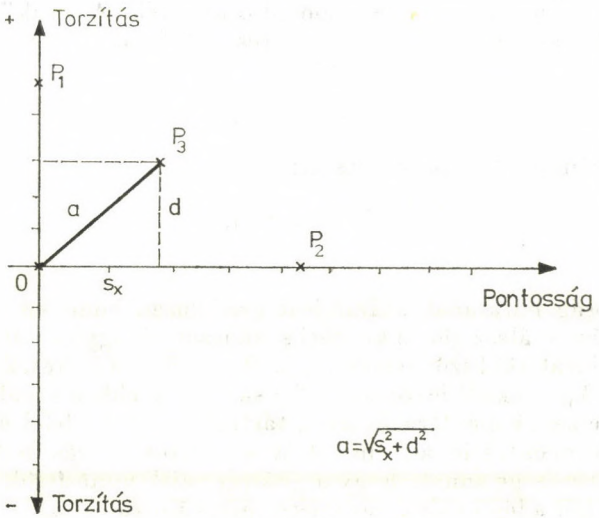
Használhatjuk a torzítás %-os értékét is:

$$T = \frac{\bar{x} - A}{A} \cdot 100 \qquad [16]$$



4. ábra. Az „accuracy" értelmezése

Fig. 4. The meaning of accuracy



5. ábra. Az „accuracy" ábrázolása koordinátarendszerben

Fig. 5. Graphical representation of accuracy in the coordinates system

A radioimmuno-eljárások terminológiájában az accuracy nem a torzítást jelenti, hanem egy összetett hiba-paramétert:

$$\text{accuracy} = \sqrt{d^2 + s^2} \qquad [17]$$

azaz a torzítás és pontosság négyzetösszegét. Egyébként ezt a terminológiát használják a bioassay-k hibapropagálásában is [4]. A *4. ábrán* grafikusan is bemutatjuk az accuracy értelmezését.

Az accuracy angol kifejezés magyar megfelelőjét (akkurácia?) nem ismerjük, így dolgozatunkban az eredeti angol kifejezést használjuk.

Az accuracy-t grafikusan ábrázolva *(5. ábra)* igen szemléletes képet ad a mérés hibájáról. Egy derékszögű koordinátarendszer abszcisszáján a pontosságot, ordinátáján a torzítást mérjük fel, így az accuracy síkban ábrázolható. A teljes mérési pontosságot az origó jelenti (0-pont). A P_1-pontban csak torzítás van, a mérés teljesen pontos (ez a gyakorlatban nem fordul elő), a P_2-pontban a mérés torzításmentes és csak véletlen hiba (s) van. A P_3-pontban mindkét hiba fellépett (ez fordul elő leggyakrabban). Az accuracy (a) az origótól mért távolságot jelenti, mely a Pythagoras-tétel alapján:

$$a = \sqrt{d^2 + s^2}$$

A kimutathatóság határának számítása

A kimutathatóság határa (detection limit) az a legkisebb koncentráció, melyet még egyértelműen mérni tudunk. Szokás még érzékenységnek (szenzitivitásnak) is nevezni, habár több szerző nem javasolja ennek használatát [3], mivel az irodalomban több fogalmat is jelölnek ezzel a kifejezéssel.

A kimutathatóság határát a kalibrációs adatok alapján számíthatjuk: a kimutathatóság határa a „vak" minta válaszparaméterének kétszeres szórás határához tartozó koncentráció (dózis) érték. A „vak" minta válaszparamétere: B_0, szórása: s_{B_0}. A kétszeres szórás határhoz tartozó válaszparaméter:

$$B_0 - 2 \cdot s_{B_0} \qquad [18]$$

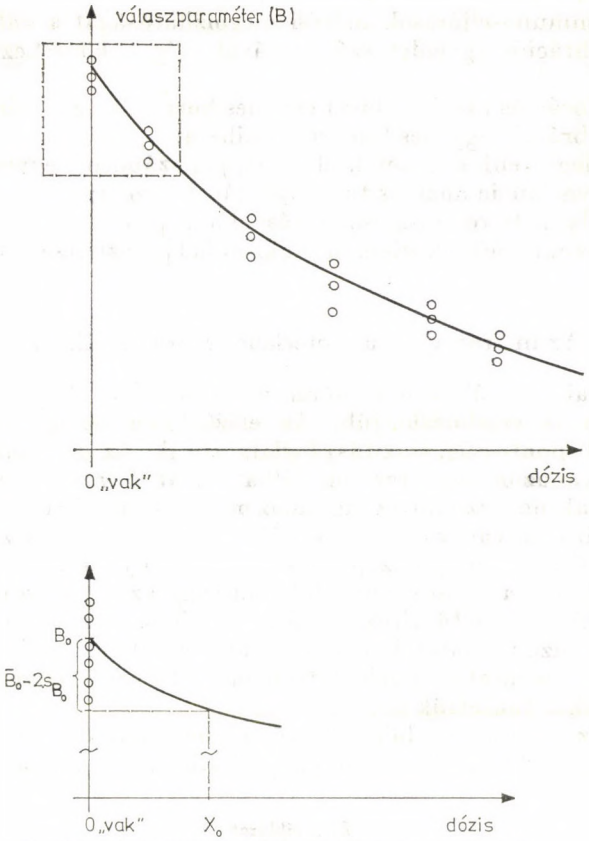
illetve ennek aránya (B/B_0 paramétere):

$$\frac{B_0 - 2 \cdot s_{B_0}}{B_0} \qquad [19]$$

A kimutathatóság határának számítását grafikusan könnyen értelmezhetjük. A *6. ábrán* a dózis-válasz görbe kezdeti szakaszát kinagyítva ábrázoltuk.

A vak mintát többször lemértük, a B_0 értéket e mérések átlaga alapján adjuk meg. A B_0-értékből levonjuk a $2 \cdot s_{B_0}$-t, így ehhez a válasz-paraméterhez az ábrán jelzett koncentráció érték tartozik (X_0). Ez felel meg a legkisebb kimutatható koncentrációnak, mivel a kétszeres szórás határon túl már kicsiny a valószínűsége annak, hogy a „háttér zajt" minősítsük a kimutatandó anyag jelenlétéből adódó válaszparaméter megváltozásának.

Példa: a TSH-RIA *II. táblázat*ban közölt kalibrációs adatai alapján a kimutathatóság határának számítása:



6. ábra. **A kimutathatóság határának értelmezése**
Fig. 6. **The meaning of detection limit**

$$B_0 = 6061 \text{ cpm} \qquad s_{B_0} = 81 \text{ cpm}$$

$$B_0 - 2 \cdot s_{B_0} = 6061 - 162 = 5899 \text{ cpm} \qquad [18]$$

$$B/B_0 = 5899/6061 = 0{,}973 \text{ azaz } 97{,}3\ \%$$

ennek logit értéke: 3,585

ezt behelyettesítve a kalibrációs egyenletbe:

$$Y = 2{,}0588 - 2 \cdot 3281 \cdot x \qquad [11]$$

$$\frac{3{,}585 - 2{,}0588}{-2 \cdot 3281} = x$$

log dózis = x = —0,6556

dózis (a kimutathatóság határa) = 0,22 μE/ml

A radioimmuno-eljárások mérési megbízhatóságát a kalibrációs adatok alapján a kalibrációs egyenlet számításával még a következő módokon adhatjuk meg:

— a kalibrációs (dózis-válasz) egyenes korreláltsága (r értéke)
— a kalibrációs egyenes linearitási hibája:
  a legkisebb négyzetek elve alapján számított egyenesnél;
  a variancia analízis tábla alapján F-próba;
  súlyozott regressziószámításnál a $\varkappa^2$ próba.

E módszereket előző közleményünkben [11] részletesen ismertettük.

Az interassay és az interlabor reprodukálhatóság

A klinikai kémiához hasonlóan a pontosságot (reprodukálhatóságot) többféleképpen is értelmezhetjük. Az előzőekben az *egy mérési sorozaton belüli* hibákkal (pontosság, torzítás) foglalkoztunk. Az ugyanazon laboratóriumon belül ugyanazon assay reprodukálhatóságát *intralabor-intraassay* reprodukálhatóságnak nevezzük. (Az ugyanazon assay azt jelenti, hogy pl. TSH meghatározására ugyanazon cég kit-jét (pl. Corning) használják.) Ennek értéke (a mérési tartomány közepén) 3—8 % között van.

Az *intralabor-interassay* reprodukálhatóság az ugyanazon laboratóriumban, de különböző eredetű kitekkel történt mérések összehasonlítása alapján történik. Ugyanazon mintát lemérjük többféle kit-tel is. A *IV. táblázat*ban ugyanazon szérum minták 5 féle kit-tel mért T_4 eredményeit és a variációs koefficiens értékét tüntettük fel.

Amint az eredményekből látható a reprodukálhatóság igen rossz. Az assay-k közötti eredményeket igen nagy óvatossággal szabad csak értékelni.

IV. táblázat

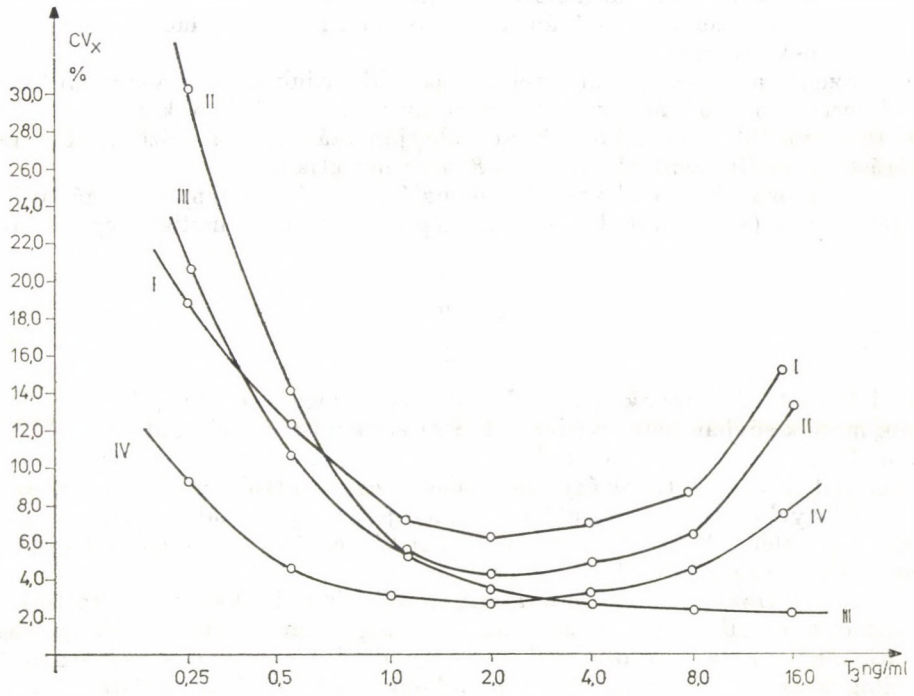
Az interassay reprodukálhatóság mérési eredményei T_4 meghatározásnál, alacsony, közepes és magas T_4 koncentráció esetén

Table 4. Interassay reproducibility. T_4 values of low, medium and high concentration.

Assay	Mérési eredmények μg/dl		
No. I.	0,35	9,4	13,4
No. II.	0,94	6,34	17,3
No. III.	0,66	6,64	14,3
No. IV.	0,53	7,48	11,1
No. V.	1,16	5,82	9,7
V_k	44,4%	19,6%	22,4%

Igen nagy jelentősége van az egységes módszerek (assay-k) alkalmazásának, illetve ezen feltételek biztosításának (módszertani standardizáció!). Sok esetben értékes kísérleti anyag megy veszendőbe amiatt, hogy időközben megváltozik a kit eredete, így a mérési eredmények inkomparábilissá válnak.

Az *interlabor-intraassay* azt jelenti, hogy különböző laboratóriumok ugyanazt a kit-et használva mekkora reprodukálhatóságot érnek el. Ennek értéke 5—10 % között mozog. Megadhatjuk a precízió profilokat is egy assaynél laboratóriumonként. A 7. *ábrán* ugyanazon T_3—RIA kit, különböző laboratóriumban mért kalibrációs adatainak precízió profilját ábrázolja.



7. ábra. Interlabor-intraassay reprodukálhatóság.
T_3-RIA ugyanazon eljárás precízió-profilja 4 különböző laboratóriumban

Fig. 7. Interlaboratory-interassay reproducibility. The precision profil of the same T_3—RIA determination in 4 laboratories

Az ábrán jól érzékelhető, hogy mekkora különbségek vannak a laboratóriumok pontossága között.

Interlabor-interassay reprodukálhatóság a legrosszabb, mivel itt különböző laboratóriumok különböző eredetű kitekkel meghatározott eredményeinek összehasonlításáról van szó. A gyakorlatban ez fordul elő a leggyakrabban, mert többször szükséges a különböző intézetekben meghatározott értékek egybevetése. A különböző intézetek rendszerint más és más kitekkel dolgoznak. Hazai felmérések szerint a T_3, T_4 és TSH interlabor reprodukálhatóság 20—60 % között mozog.

A radioimmunoassay-k minőségellenőrzése

A mérési eredmények megbízhatóságának biztosítása érdekében a minőségellenőrzés rendszeres végzése elengedhetetlen a radioimmuno-eljárásoknál. A quality control több módja ismeretes ezen a területen is. A legegyszerűbb módszer a minőségellenőrző kártya alkalmazása, itt azonban legalább 3 koncentrációnál (dózisnál) kell ezt végeznünk, mivel a kalibrációs görbe jellegéből adódóan igen nagy különbségek lehetnek a mérési tartományon belül.

A minőségellenőrző kártya. A pontosság (precisio) ellenőrzésére szolgál. A kontrollkártya megszerkesztéséhez 2 adatra van szükségünk:

— a kontroll szérum koncentrációjának középértéke,

— a módszer pontosságának, szórásának, illetve variációs koefficiensének értékére.

Ezeket az értékeket mérések alapján állapítjuk meg. A vizsgálni kívánt módszerrel 15—20 párhuzamos meghatározást végzünk a kontroll savóból (esetleg gyűjtött szérumból). Ennek alapján számítjuk a középértéket és a szórást. A quality control kártyát a *8. ábra* mutatja be.

A koordináta rendszer középvonalán a mérés alapján megállapított középértéket ($\bar{x}$) jelöljük be. Hasonlóképpen egy-egy vonallal megjelöljük a

$$\bar{x} \pm s$$
$$\bar{x} \pm 2 \cdot s$$
$$\bar{x} \pm 3 \cdot s$$

távolságokat. A naponkénti eredményeket bejegyezve vizsgálhatjuk, hogy azok melyik sávban helyezkednek el. Statisztikai ismereteink alapján 95 %-os valószínűséggel a $\pm 2 \cdot s$ sávba esnek a naponkénti mérési eredmények. Amennyiben a $2 \cdot s$ távolságot meghaladja egy kontroll minta értéke, akkor ez már figyelmezteti a laboratórium vezetőjét, hogy a módszer pontosságával valami probléma lehet. A $3 \cdot s$ távolságon túli eredmény esetén már azonnali beavatkozás szükséges (alarm határ).

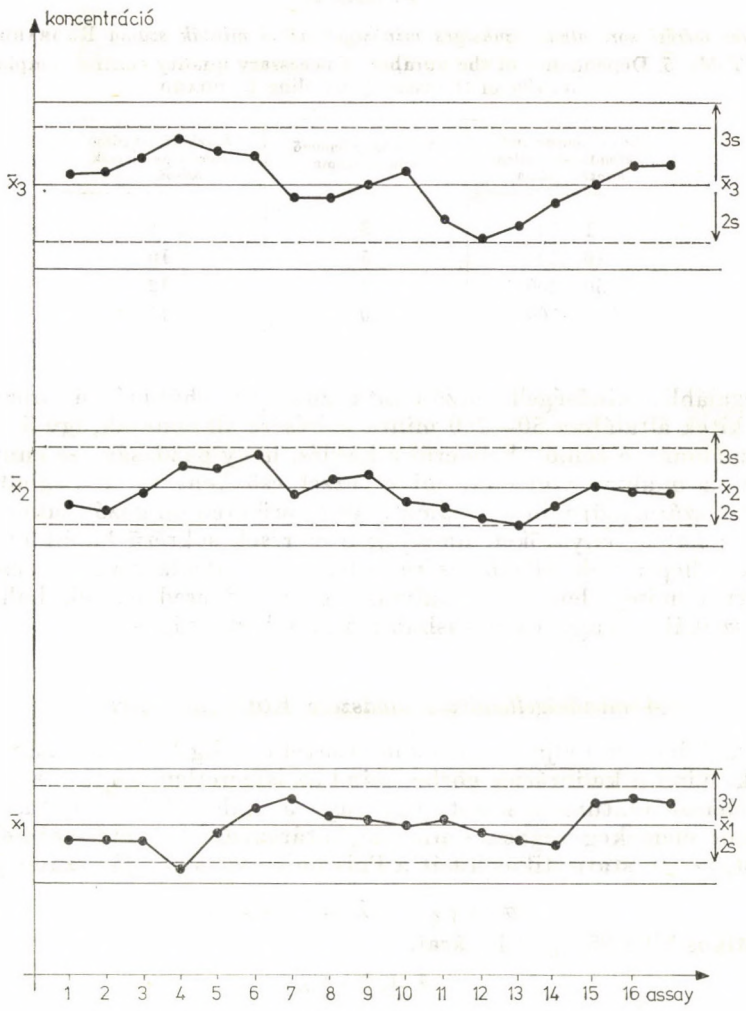
A kontrollt minden laboratóriumi eljárásra ki kell terjesztenünk. A precízió kontroll megszervezése nem költséges, mert nincs szükség nagypontosságú standard savóra, melyek beszerzési ára igen magas. Szükség esetén házilag készített és megfelelő módon konzervált és tárolt gyűjtött savó is megfelel erre a célra. A *8. ábrán* feltűntettük a kontroll savó mérési eredményeinek naponkénti értékeit. Szokás az egy havi mérés eredményeit összegezni, az egy havi összes mérés eredményeinek középértékét, szórását és variációs koefficiensét számolni. Így az egész havi mérés pontosságát is megállapíthatjuk. (Ez a naponkénti reprodukálhatóság mértéke. Nagysága meghaladja az egy mérési sorozaton belüli reprodukálhatóságot.)

A torzítás (accuracy) ellenőrzéséhez, mint említettük nagy pontosságú szérumra (HYLAND, DADE stb.) van szükség. A torzítás számítása a [*16*] összefüggés alapján számítható:

$$T\,\% = \frac{x - A}{A} \cdot 100$$

A: a standard savó gyári nominális értéke

x: a kontroll savó mérési eredménye



8. ábra. RIA-minőségellenőrzés
Fig. 8. RIA quality control

A torzítás elfogadható értéke 5 %—10 %. Amennyiben ezt a szintet meghaladja, szisztémás hiba jelenlétét tételezzük fel. A pontosság ellenőrzéséhez hasonlóan itt szerkeszthetünk kontroll kártyát, amelyen a naponkénti torzítás (T %) eredményeit tűntetjük fel. Meghúzzuk a tolerancia határt (± 5 %) a középvonal a 0 érték lesz (itt torzítás mentes a mérés). Ez a grafikon igen érzékenyen jelzi, ha a módszerben valami szisztémás hiba lép fel (pl. új reagens alkalmazása, új hígító berendezés, hibás kalibráció stb.).

Felmerül a kérdés, hogy az igen költséges eljárás mérési mintáiból mennyit áldozzunk a kalibrációra és minőségellenőrzésre. Az *V. táblázat*ban Rodbard [13] összeállítását közöljük.

V. táblázat

Az egyes mérési sorozatban szükséges minőségellenőrző minták száma RODBARD *szerint*

Table. 5. Dependence of the number of necessary quality control samples on size of the assay (according RODBARD)

Az egy sorozatban mérendő ismeretlen minták száma	A minőségellenőrző minták száma	A kalibrációs görbe mérési pontjainak (dózisok) száma
1—10	3	6
10—50	5	10
50—200	7	12
200—500	10	15

Legalább 3 minőségellenőrző minta szükséges tehát mérési sorozatonként. A gyári kitek általában 50—200 minta mérésére alkalmasak, így 5—7 mintát kell használnunk e célból. Felmerül a kérdés, hogy gazdaságos-e ennyi mintát használni a quality controlra, mivel ezzel csökkentjük a meghatározandó (a betegtől származó) minták számát. Az e területen dolgozó szakemberek jól ismerik azokat a tényezőket, amelyek e mérések sokrétű hibáit okozhatják. E hibák fellépésének ellenőrzésére, illetve megakadályozására csak a jól szervezett minőségellenőrzés alkalmas. A mérési eredmények felhasználása a diagnosztikában vagy a kutatásban csak így biztonságos.

A minőségellenőrzés módszere RODBARD *szerint*

A radioimmuno-eljárásoknál a méréseket mindig 2—3 párhuzamos mintán végezzük, mind a kalibrációs görbe, mind az ismeretlen minta meghatározása esetén. Mérési adatunk a kötött (B) vagy a szabad (F) aktivitás nagysága counts/min mértékegységben (cpm meghatározva). A beütés-számok közötti szóródást, az ún. statisztikus hibát a Poisson-eloszlás alapján számítjuk:

$$\sigma = \sqrt{\lambda} \qquad \lambda = \mathrm{B}\ (\mathrm{cpm}) \qquad [20]$$

a statisztikus hiba 95 %-os határai:

$$\lambda \pm 2 \cdot \sqrt{\lambda} \qquad [21]$$

illetve:

$$\mathrm{B} \pm 2 \cdot \sqrt{\mathrm{B}} \qquad [22]$$

A párhuzamos minták között azonban ennél jóval nagyobb eltérések vannak, mert a metodikai hibák (pipettázások, dekantálás, kémcsőszennyeződés, a mérőberendezés hibája stb.) hozzáadódnak ehhez. Felmerül a kérdés, hogy *mekkora eltérést tolerálhatunk a párhuzamos minták beütésszámai között?* Azaz mekkora eltérésnél kell a mérési eredményt elvetnünk és új mérést végeznünk?

Első lépésként több mérési sorozat több száz mérési adatai alapján (a kalibrációs és az ismeretlen minták mérési eredményei) meghatározzuk a párhuzamos mérések beütés-száma és annak varianciája közötti összefüggés jellegét, azaz B és s^2_B közötti kapcsolatot. (A B/B_0 és az s^2_{B/B_0} közötti összefüggést a precízió profil számításánál már említettük.)

A beütés-szám és a varianciája közötti összefüggést a

$$s_B^{2]} = v \cdot B^J \qquad [22]$$

függvénnyel, vagy a

$$s_B^2 = v_1 + v_2 \cdot B^2 \qquad [23]$$

parabolikus függvénnyel vizsgálhatjuk.

Példa: TSH-RIA több mérési sorozatnál 302 párhuzamos (duplikát) minta mérési eredményei alapján a [22] összefüggésre az alábbi eredményt kaptuk:

$N = 302$ $\qquad s_B^{2]} = 0{,}21 \cdot B^{1{,}22} \qquad [23]$

$r = 0{,}684$

A válaszparaméter (B) és varianciája között tehát igen szoros összefüggés van (l. r értékét). A 302 mérés egyedi adatai és a [23] regressziós görbe a *9. ábrán* láthatók.

A [23] összefüggés alapján bármely B-értékhez kiszámíthatjuk a hozzátartozó variancia (s_B^2) becsült értékét. A párhuzamos minták szórásának toleranciáját az F-próba alapján számíthatjuk:

$$F = \frac{s_B^2 \text{ megfigyelt értéke}}{s_B^2 \text{ becsült értéke}} \qquad [24]$$

valószínűségénél állapíthatjuk meg:

$$\text{tolerancia határ} = F^{0{,}05}_{[n_1, n_2]} \cdot s_B^2 \text{ (várható érték)} \qquad [25]$$

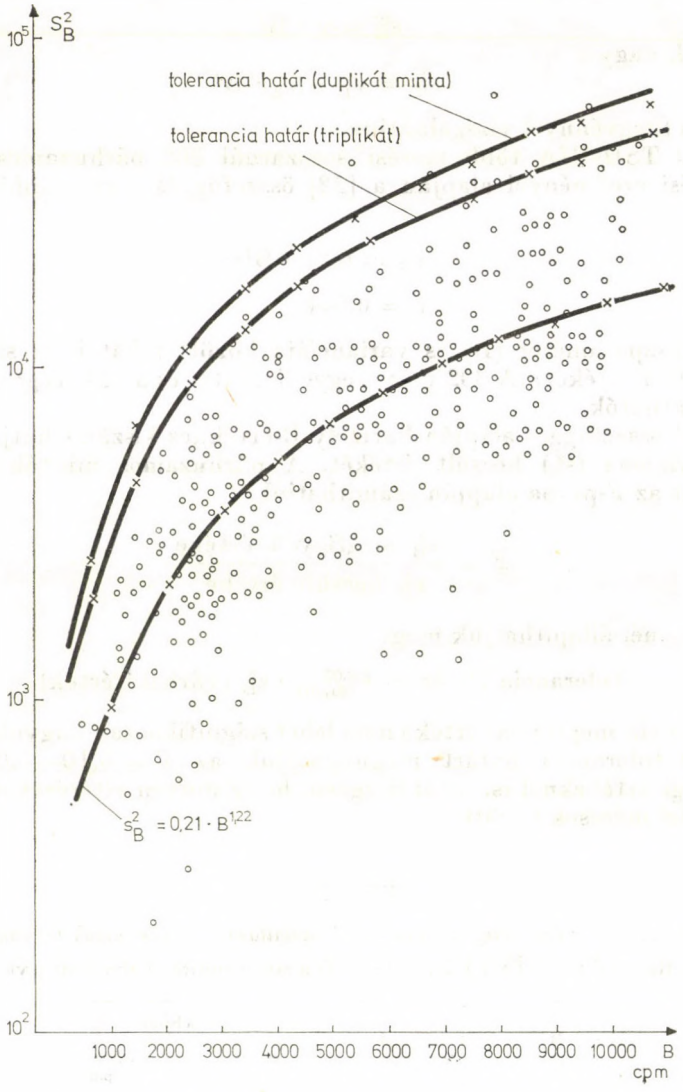
azaz a variancia megfigyelt értéke nem lehet szignifikánsan nagyobb a becsült értéknél. A tolerancia határt meghúzhatjuk az $F = 0{,}10$—$0{,}001$ közötti valószínűségi értékeknél is, attól függően, hogy milyen eltéréseket engedünk meg a paralel mérések között.

VI. táblázat

TSH-radioimmunoassay mérési megbízhatóságának számítása a beütésszámok tolerancia határaival

Table 6. Reliability of TSH-RIA values. Tolerance limits of the count-variances.

B cpm	s_B^2 cpm	Tolerancia határ $F \cdot s_B^2$	
		duplikát cpm	triplikát cpm
750	676	2 615	2 050
1 500	1 574	6 090	4 770
2 500	2 936	11 360	8 890
3 500	4 426	17 130	13 410
4 500	6 014	23 270	18 220
5 500	7 682	29 730	23 280
6 500	9 418	36 450	28 540
7 500	11 215	43 400	33 980
8 500	13 065	50 560	39 590
9 500	14 964	57 910	45 340
10 500	16 900	65 400	51 210



9. ábra. TSH-RIA tolerancia határok
Fig. 9. TSH-RIA tolerance limits

Az F szabadságfokai:

n_1: a párhuzamos minták száma mínusz egy
(duplikát esetén 1, triplikát esetén 2)

n_2: az összes meghatározások száma mínusz egy
(példánkban 302—1 = 301)

A tolerancia határt példánkban 0,05 valószínűségi szinten húztuk meg, így az F értéke:

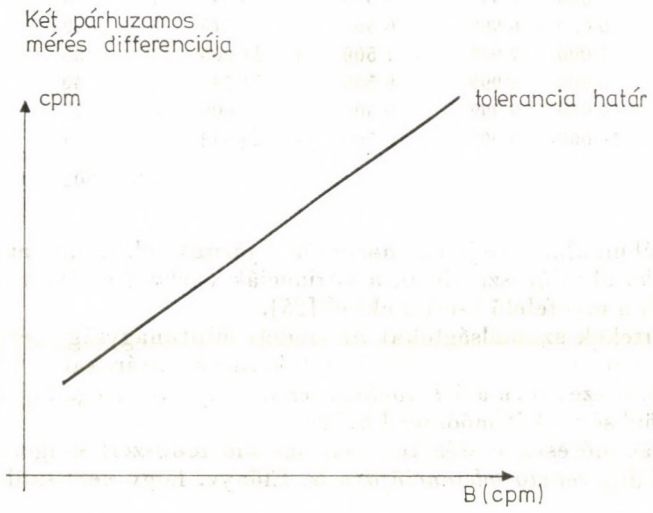
duplikát minták esetén $F^{0,05}_{[1,301]} = 3,87$

triplikát minták esetén $F^{0,05}_{[2,301]} = 3,03$

Az F-értékeket statisztikai táblázatokból [1] állapítjuk meg.

A példánkban számított tolerancia határokat a B = 750—10 555 cpm tartományban a *VI. táblázat*ban, illetve a *9. ábrán* tűntettük fel, illetve ábrázoltuk.

Az egyes beütés-számokhoz (B) kapott varianciák várható értékét (s^2_B) a [22] összefüggés szerint számítottuk. A tolerancia határokat a megfelelő F értékekkel szorozva a [25] összefüggés alapján számítottuk.



10. ábra. Tolerancia határ a duplikát minták differenciája szerint
Fig. 10. Tolerance limit determinated by the differences of duplicate samples

A tolerancia határok ismeretében egyértelműen minősíthetjük, hogy a *párhuzamos minták közötti eltérést meddig fogadhatjuk el, és milyen eltérésen túl vetjük el a mérési eredményt és végzünk új mérést.*

A tolerancia határ számítását még egyszerűbbé tehetjük, ha a B és s^2_B kapcsolatát nem az egyedi mérések adataival számítjuk (több száz mérés adataival), hanem a mérési tartományt felosztjuk 5—10 részre és ezekben a részekben meghatározzuk az s^2_B *mediánjait*, és a továbbiakban a több száz adat helyett csak ezzel az 5—10 adattal számolunk.

Például: a TSH-RIA esetén a mérési tartományt 500—11 000 cpm között 10 egyenlő részre osztottuk és ezekben külön-külön megállapítottuk a varianciák (s^2_B) mediánjait *(VII. táblázat)*.

A B-értékek osztályközepei és az s^2_B medián-értékei alapján számítottuk a [22] regressziós összefüggést:

$$s^2_B = 0,49 \cdot B^{1,12} \qquad [26]$$

VII. táblázat

TSH-radioimmunoassay mérés tolerancia határainak számítása

Table 7. Tolerance limits in TSH-RIA

Mérési tartomány (B) [cpm]	Mérési tartomány közepe [cpm]	A variancia mediánja [cpm]	Esetszám
500— 999	750	835	3
1 000— 1 999	1 500	2 323	27
2 000— 2 999	2 500	2 417	46
3 000— 3 999	3 500	4 500	39
4 000— 4 999	4 500	6 576	17
5 000— 5 999	5 500	6 892	35
6 000— 6 999	6 500	9 815	28
7 000— 7 999	7 500	11 000	35
8 000— 8 999	8 500	11 740	40
9 000— 9 999	9 500	13 600	27
10 000—10 999	10 500	20 643	5
			N = 302

A továbbiakban teljesen hasonlóan járunk el, mint az előzőekben, a [22] egyenlet alapján számítjuk a varianciák várható értékeit (s_B^2) és ezeket megszorozzuk a megfelelő F-értékekkel [25].

Az F-értékek szabadságfokát az eredeti mintanagyság szerint állapítjuk meg (példánkban $n_1 = 1$; $n_2 = 301$). A tolerancia határokat a *VIII. táblázat*-ban közöljük, összevetve a *VI. táblázat* eredményeivel megállapíthatjuk nincs lényeges különbség a két módszer között.

Duplikát mérések esetén teljesen hasonló módszert dolgoztunk ki *a két minta közötti differencia toleranciájára* is. Előnye, hogy nem szükséges a vari-

VIII. táblázat

TSH-radioimmunoassay mérés tolerancia határainak számítása

Table 8. Tolerance limits in TSH-RIA

B [cpm]	s_B^2 [cpm]	Tolerancia F · s_B^2	
		duplikát [cpm]	triplikát [cpm]
750	831	3 220	2 520
1 500	1 811	7 010	5 490
2 500	3 216	12 450	9 740
3 500	4 694	18 170	14 220
4 500	6 226	24 090	18 860
5 500	7 801	30 190	23 640
6 500	9 412	36 420	28 520
7 500	11 054	42 780	33 490
8 500	12 724	49 240	38 550
9 500	14 418	55 800	43 690
10 500	16 134	62 440	48 890

anciát számolni, mert a paralel minták különbségei alapján állapítható meg, hogy a differencia tolerábilis-e. Grafikon használata még egyszerűbbé teszi ezt a módszert *(10. ábra)*.

Összefoglalás

A szerző a radioimmuno-eljárások mérési megbízhatóságának statisztikai elemzését ismerteti. Leírja a mérési megbízhatóság alapvető paramétereinek: a pontosságnak, torzításnak, a kimutathatóság határának értelmezését és számításának módjait. Részletesen ismerteti a precízió-profil értelmezését és számítását a kalibrációs adatok alapján. Rövid áttekintést ad az interassay és interlabor reprodukálhatóság számításának módjairól.

A radioimmunoassay-k minőségellenőrzésének legegyszerűbb módszerének leírásán túl részletesen leírja a RODBARD által javasolt minőségellenőrző módszert, amely válaszparaméter varianciájának számításán alapszik.

IRODALOM

1. ARMITAGE, P. (1971) *Statistical methods in medical research.* Blackwell Scientific Publications, Oxford.
2. BLISS, C. I. (1970) *Statistics in Biology.* McGraw-Hill Book Company, New York.
3. EKINS, R. P. (1977) *Basic concepts in quality conirol.* IAEA, Berlin.
4. FINNEY, D. J. (1971) *Probit analysis* (3rd. ed.) Cambridge University Press, Cambridge
5. FINNEY, D. J. (1976) Radioligand assay. *Biometrics*, **32**, 721—740.
6. HEALY, M. J. R. (1972) Statistical analysis of radioimmunoassay data. *Biochem. J.* **130**, 207—210.
7. JEFFCOAT, S. L. (1977) *The use of quality control within laboratory.* IAEA, Berlin.
8. LEWIS, P. W. and DIXON, K. (1971) Actions limits for internal quality control. *Clin. Chim. Acta*, **35**, 21.
9. MIDGLEY, A. R., NISWENDER, G. D. and RERAR, R. W. (1969) Principles for the assessment of the reliability of radioimmunoassay methods (precision, accuracy, sensitivity, specificity). *Acta Endocrinol.*, **142**, 163—184.
10. NAUS, J. I. (1975) *Data quality control*, Marcel Decker, New York.
11. PAKSY, A. (1979) Radioimmuno-eljárások statisztikai elemzése. *Biológia*, **27**, 121—147.
12. RODBARD, D. (1974) Statistical quality control and routin data processing for radioimmunity and immunradiometric assays. *Clin. Chem.*, **20**, 1255—1270.
13. RODBARD, D. (1978) *Quality control for RIA. Recommendations for a minimal program.* IEA, Vienna. 21—36.
14. RODBARD, D. and FRAIZER, G. R. (1975) Statistical analysis of radioligand assay data. *Methods in Enzymology*, **37**, 2—22.
15. RODBARD, D., LENOX, H., WRAY, H. L. and RAMSTETT, D. (1976) Statistical characterization of the random error in the radioimmunoassay dose-response variable. *Clin. Chem.*, **22**, 350—358.

STATISTICAL APPRAISAL OF THE MEASUREMENTAL RELIABILITY IN RADIOIMMUNOASSAY

A. Paksy

Semmelweis University of Medicine, Biometric Unit, Budapest, Hungary

Discussed is the statistical appraisal of the measuremental reliability in radioimmunoassay. Treated are the most important aspects, *viz.* precision, accuracy, detection limit, their meanings and their computations. Detailed is the meaning of the precision profile, as well as its computation from the calibrational data. A bief over-view is given on the computational methods of the interassay and interlaboratory reproducibilities.

After describing the most simple method of the quality control in radioimmunoassays the method proposed by RODBARD in treated in detail, *viz.* based on the tolerance limits of the response parameter.

Biológia, 28, 1980. 96—106

AZ EMBERI VÁZIZOMZAT REGENERÁCIÓJA

JÓZSA LÁSZLÓ, VÁNDOR ERVIN, RÉFFY ANTAL, DEMEL ZSUZSA
SZILÁGYI ISTVÁN, SZABÓ GY. JÁNOS

Országos Traumatológiai Intézet, Budapest

Beérkezett: 1979. december 5-én

Kulcsszavak: Vázizom regeneráció, emberi izom, mechanikus sérülés

Bevezetés

Szinte napjainkig tartja magát az a téves nézet, miszerint az emberi vázizmok annyira differenciált sejtekből állnak, hogy nem képesek regenerációra. A felfogás nemcsak a hazai szakkönyvekben, hanem ILLINGWORTH és DICK 1963-ban kilencedik kiadásban megjelent „Sebészeti pathologia" c. könyvében is fellelhető [23].

Ezzel szemben az az igazság, hogy a múlt század második felének nagy német patológusai helyesen állapították meg, hogy az emberi izom képes a regenerációra. ZENKER 1864-ben megjelent — a hastífuszhoz társuló izomelváltozásokról szóló — művéből, tankönyveink csak az ún. ZENKER-féle viaszos elhalást vették át és vésték az orvosi köztudatba, azt azonban már nem, hogy ugyanezen műben a regeneráció leírása is megtalálható [70]. ZENKER leírta az izomregenerációt megindító orsósejteket (ma mioblasztoknak nevezzük), melyek a későbbiekben „hurkaszerű képletekké" (mai nevük miotubus) állnak össze és végül érett izomsejtekké differenciálódnak. WALDEYER 1865-ben ugyancsak hastífuszosok, valamint egyéb gyulladásos izommegbetegedések kapcsán megerősítette, s újabb megfigyelésekkel egészítette ki ZENKER leírását [68].

A továbbiakban WEBER (1867), majd VOLKMANN (1893) foglalkoztak az emberi izmok regenerációjával. Érdekes módon VOLKMANN munkásságából is csak egyetlen megállapítást (ti. az ischaemias contracturát) tartjuk számon, s ezt is helytelenül, nem olyan kritériumok mellett, ahogy az az eredetiben szerepel; s elfeledkeztünk arról, hogy ő állapította meg, hogy más az izomregeneráció módja a szarkolemma membrán sérülése ill. épsége esetén [65, 69]. WALDEYER (1865) megfigyelte, hogy az ép izomban is jelenlévő, az izomrostok körül elhelyezkedő sejtek (mai nevük szatellita sejtek) a sérüléskor óriássejteket képeznek, s ezekből differenciálódik az izomzat.

Mindezek a ma is helytálló és alapvetően fontos megfigyelések csaknem egy évszázadra feledésbe merültek, míg 1961-ben KONIGSBERG szövettenyészeten végzett filmfelvételei be nem bizonyították, hogy a mioblasztoktól az érett, differenciált izomsejtekig, minden úgy és olyan lépésekben történik, ahogy azt ZENKER és WALDEYER hisztopatológiai vizsgálataikban leírták [41]. Bebizonyosodott, hogy mind az izomregeneráció kapcsán leírt kép, mind annak interpretációja helyes volt.

Neumann (1868), majd Schmincke (1908) azt találták, hogy az izomsejt regenerációja olyan módon is létrejöhet, hogy a sérült, elszakadt rost nem veszíti el vitalitását, hanem magosztódás útján hosszanti növekedést végez, s mintegy áthidalja az elpusztult területet [50, 56]. Miller (1934), majd Clark (1946) megerősítették a korai megfigyeléseket [13, 47].

A fenti, rövid áttekintésből kiderült, hogy több mint száz évvel ezelőtt helyesen írták le az emberi izom regenerációs lehetőségeit, módozatait, ennek ellenére tartja magát az ellenkező nézet. Bizzozero (1894) indította útjára a vázizom regeneráció képtelenségéről szóló téveszmét: „Such regeneration as takes place is very limited, and can have no influence on the functional perfections of the muscle, since the cicatrix is almost exclusively of connective tissue" [6]. Honnan ered a nézetek közötti ellentmondás? Kétségtelen, hogy nem következik be regeneráció ha a sérülés igen nagy izomtömeget érint, vagy ha az izomsérüléshez nagyér elzáródása társul, ill. igen gyér a regeneráció az izom égési sérülése után. Az is igaz, hogy a kötőszövetképződés, a rosttermelés gyorsabb ütemű, mint az izomsejtek regenerációja, s egyes esetekben megtörténik, hogy a hegszövet „bezárja" az izombimbókat, megakadályozza azok növekedését. A fibroblasztok proliferációja, az alapállomány és részben a rosttermelés nem igényel vérellátást (sőt vérellátás hiányában fokozódik), ezzel szemben az izomsejt-regeneráció csak akkor indul meg, amikor a sérült terület rekapillarizálódik, s megindul a keringés (általában a 3—5. napon) [42]. Mindezek azonban nem mondanak ellent annak, hogy az esetek döntő többségében az emberi izom is regenerálódik.

Izompusztulás és újraképződés a sérülés után

Az emberi izom mechanikus sérülését követően mi magunk elektronmikroszkópos vizsgálattal három zónát [32], mások kettőt tudtak elkülöníteni. Az erőbehatás helyén az izomsejtek szétszakadoznak, a szarkolemma megsérül, a kontraktilis elemek tönkremennek, homogenizálódnak, 12 órán belül teljes izomsejt nekrozis alakul ki. Az erőbehatás helyét övező, 2—4 cm-es területen a rostok egy részében a sérülés után közvetlenül nem mutatható ki elváltozás, sem hisztokémiailag, sem elektronmikroszkóposan. Más izomsejtekben a kontraktilis elemek szakadozása, hiperkontrakció látszik. A centrális területen, nagy kiterjedésű, roncsoló a bevérzés, míg ez utóbbi zónában csekélyebb, intersticiális jellegű, vagy esetleg hiányzik. Végül a sérülés központjától 4—8 cm-re lévő, makroszkóposan épnek látszó területen egyes izomrostokban a hiperkontrakció, inter- és intracelluláris ödéma látszik, azonban vérzések nem. Az izomsejtekben — szinte a sérülés pillanatától kezdve — csökken, majd megszűnik a foszforiláz aktivitás [27, 49], egy órán belül kialszik a branching enzim és CPK tevékenysége [33] erősen csökken a glikogén tartalom és a citokróm-c oxidáz aktivitása [29]. A borostyánkősavdehidrogenáz, laktátdehidrogenáz, NADH-diaforáz, NADPH-diaforáz, glukóz-6-foszfátdehidrogenáz, glutamátoxidáz aktivitás a sérülés utáni 4. órában kezd csökkenni, s 24—36 óra alatt teljesen megszűnik a sérült sejtekben. Azokban a sejtekben, melyek nem sérültek, 4—6 óra múltán ugyancsak erősen csökken az enzim-tevékenység, elektonmikroszkóposan pedig kimutatható a mitokondriumok károsodása [25, 29, 32]. Mind a sérült, mind a nem sérült izomsejtekben emelkedik a szarkoplazma Na^+, és csökken a K^+ tar-

talma [30]. WAGNER és mtsai [66] a pentózfoszfát út enzimjeit vizsgálták, s megállapították, hogy az első 24 órában az oxidatív enzimek aktivitása kilencszeresére nő meg, míg ugyanezen idő alatt a nem oxidatív enzimek aktivitása alig gyarapodott. WAGNER és mtsai előzőleg 69 napig figyelték a regenerációt kísérő enzimaktivitás változásokat. Ennek során az enzimeket 3 csoportba tudták osztani: az 1. csoportba tartozó hexokináz és glukóz-6 foszfát-dehidrogenáz enzimek aktivitása nagyon gyorsan megemelkedett. A 2. csoportba tartozó foszforiláz, foszforfruktokináz és alfa-glicerofoszfát-dehidrogenáz enzimekre a gyors aktivitáscsökkenés volt jellemző. Az aktivitások értéke a vizsgált időszak végéig — 69 napig — sem érte el a kiindulási normál értéket. A 3. csoportba tartozó enzimek aktivitása kezdeti csökkenés után a normál értékre emelkedett. Ide tartozott a tejsavdehidrogenáz, a piruvátkináz és az adenilátkináz enzim.

Az emberi izmokban a sérülést követően 6—8 óra múlva jelentkezik a granulocitás invázió [20]. Ez eleinte csak intercelluláris, de 18—30 óra múltán a fehérvérsejtek bejutnak a szarkoplazmába, függetlenül attól, hogy volt-e szarkolemma sérülés, vagy sem. A sérült, elpusztult izomsejtek lebontása 2—3 nap alatt megtörténik, időközben a granulociták egyéb sejtelemekkel egészülnek ki, megjelennek a limfociták és makrofág sejtek [3, 4, 9]. A 3. naptól kezdve megindul, majd az 5—7. naptól egyre kifejezettebbé válik a sérült terület keringése. Ezzel tulajdonképpen be is fejeződött a sérülés okozta sejtpusztulás és eltakarítás, s a 8. naptól kezdve a lobsejtek fokozatosan átadják helyüket, az időközben kialakult, és egyre tömegesebbé váló sarjszövetnek.

Az izomregeneráció többféle úton jön létre, eltérő a miogén sejtek eredete is.

1. Szatellita sejtek: Jelenlegi nevükön MAURO írta le 1961-ben a szatellita sejteket [46], bár — igaz más néven — már WALDEYER is említette azokat [68]. A szatellita sejtek az ép izomban is állandón jelen lévő, az izomsejt felszínén a szarkolemma és endomizium között az ún. foveolában elhelyezkedő $25 \times 4 \times 6$ μm nagyságú sejtek. Fénymikroszkóposan nem mindig különíthetők el az izomsejtektől, magjuk nagysága, morfológiája megegyezik azokéval, sejtplazmájuk csekély. Plazmájukban kevés mitokondrium, jól fejlett endoplazmás retikulum és bő glikogén tartalom mutatható ki elektronmikroszkóppal. CHOU és mtsai az emberi szatellita sejtekben T-szisztémát tudtak kimutatni, s úgy vélik, hogy a szatellita sejtek anyagcsere-kapcsolatban állnak az izomsejtekkel. A szatellita sejtek aránya a korai posztnatalis időszakban tekintélyes (CHIAKULAS és mtsai [10] szerint patkány izmokban 42—83 % közötti), a későbbiekben csökken, s felnőtt állatokban, ill. emberben 5—10 %-át teszik ki az izomnak [4]. MOSS és mtsai [49], valamint ALLBROOK [1] állapították meg, hogy a szatellita sejtek magja felveszi a ^{3}H-timidint, ezzel is jelezve, hogy a mag potencionálisan oszlásra kész állapotban van. Ugyanezen szerzők írták le, hogy a jelzett szatellita sejtek, ill. a sejtmagok egy része 24—48 óra alatt beépült az izomsejtekbe, viszont a szatellita sejtmagoknak 35—40 %-a nem mutatott tricium beépülést. SCHIAFFINO és mtsai [55] ugyanezzel az izotópos módszerrel a kompenzációs hipertrófiánál is megállapították, hogy az újonnan képződő szatellita sejtek beépülnek az izomrostokba. Ezek a jelenségek arra engednek következtetni, hogy állandó átalakulás történik az izomban a szatellita és az izomsejtek között. Úgy

tűnik, hogy szemben a régi felfogással, amely szerint az izom növekedése és hipertrófiája során csupán a citoplazma tömege nő meg, de a sejtmagok száma nem változik, a szatellita és az izomsejtek közti kapcsolat következtében megnő a nukleuszok száma is, és ez a folyamat az alapja az izomnövekedésnek és hipertrófiának [9, 55].

Elsőként leírójuk, s azóta számos utánvizsgáló, a szatellita sejteket az izomban elhelyezkedő pluripotens tartaléksejteknek tartja. CHURCH és mtsai [12] szerint a sérülés utáni 1—2 napban *ép szatellita sejtek* mutathatók ki ott is, ahol az izomsejtek teljesen elpusztultak. Az izompusztulás hatására megindul a szatellita sejtek osztódása. LEVANDER [43] roncsolt izom sejtmentes kivonatát adta egereknek, s azokban a miogén sejtek proliferációját találta. TERÄVÄINEN [60] ezt a jelenséget úgy vizsgálta, hogy patkányok szemizmára (m. rectus sup. oculi) olyan enyhe nyomást gyakorolt, hogy annak morfológiai következményeit elektronmikroszkóposan sem tudta kimutatni; ennek ellenére a 24—48 óra közötti időszakban a szatellita sejtek erős felszaporodását észlelte. A szatellita sejtek a sérülés utáni 24—48 órában felszaporodnak, nő a sejtek DNS és RNS tartalma és átalakul a finomszerkezeti kép [8, 67, 71]. A citoplazmában sok a szabad riboszóma, ezek 25—60 tagból álló riboszóma-spirállá csapódnak össze, és megindul bennük a miozin produkció [22].

2. *A mioblaszt sejtek:* A nyugvó szatellita sejtekből — a sérült izomsejtekből felszabaduló, egyelőre ismeretlen anyag hatására — kialakulnak az aktív mioblasztok. A sérülést követő 48. órában a szatellita sejtek többsége átalakul mioblaszttá és a miozin termeléssel egyidőben megindul a miofilamentum képzés [2], azonban a miofilamentumon belül differenciáció még nincs. FISCHMANN [16] szerint a legtöbb magasabb rendű gerincesben az aktin és a miozin tömeges szintézise csak a miotubusok képződése után indul meg.

3. *Miotubusok* (izombimbók): A sérülés utáni 72. órától kezdve a mononukleáris mioblaszt sejtek száma gyorsan csökken, ugyanis a mioblasztok szinciciális sejtekké állnak össze. Ezek a hosszúkás sejtek a maradvány endomiziumon belül helyezkednek el, plazmájuk enyhén bazofil, magjuk gyöngysor-szerűen középen van. A szinciciális sejtekké való összeállás során, valószínűleg ugyanúgy mint a vázizom sejtekből álló kultúráknál, a mioblasztok előbb 2—3 proliferatív cikluson mennek keresztül, majd megszűnik a mitózis és megindul a sejtfúzió; multinukleáris miotubusok jönnek létre [19]. A miofibrilláris fehérjék, mint az aktin, a miozin, troponin, tropomiozin szintézise a posztmitotikus mioblasztokban, ill. a miotubusokban indul meg. Ezen fehérjetömegek szintézise időben összekapcsolódik a miotubusok keletkezésével. E sejtek mitotikus ciklusa rövid, ZHINKIN és mtsai [71] szerint 20 óra. ^{3}H-uridin felvételük igen intenzív, citoplazmájukban emelkedik a mitokondriumok száma. WAGNER és mtsai [66] szerint a vázizom regeneráció kezdeti szakaszában fellépő anabolikus folyamatokat a pentózfoszfát anyagcsere fokozódásából származó energia fedezi. Ugyancsak ők állapították meg [66], hogy ezen az úton triózok termelődnek, amelyek a trióz-foszforizomeráz segítségével bekerülhetnek a glikolízis folyamatába, és ily módon mégiscsak lehetőség nyílik a foszfofruktokináz út megkerülésével a glikolízisre, mindaddig amíg a regeneráció későbbi szakaszában a glikolitikus és az oxidatív enzimek mennyisége nem pótlódik teljesen. A 6—7. naptól kezdve nő a miotubu-

sok enzimaktivitása, mégpedig előbb a pentózfoszfát dönt, majd az anaerob glikolízis enzimjeié, s csak a 10—14 naptól kezdve jelennek meg az oxidatív anyagcsere enzimei [27]. Ezalatt előbb szubszarkolemmálisan, majd egyéb területeken is kialakulnak a miofilamentumok. Elsőként a Z membrán, majd sorrendben az A, I, H, M szegmentumok különülnek el és a szarkomer morfológiai képe, méretei megegyeznek az ép izoméval [2]. Ez a folyamat a 10—14. napra megy végbe és teljesen azonos az embrionális izom fejlődésével [19].

Az izomsejtek sérülést követő pusztulásával együtt elpusztulnak a motoros végkészülékek is, az axon degenerációja azonban csak pár mikronnyi, így a regresszív folyamatok (a mozgató idegen) 4—5 nap alatt befejeződnek, s megindul előbb a SCHWANN-sejtek proliferációja, majd az axon növekedése. A miotubusok és idegrostok találkozása a 12—14. napon következik be és ekkor már gyenge akciós-potenciálok észlelhetők EMG-vel.

A motoros végkészülékek először a 21. napon mutathatók ki, majd a 28—35. napra kialakul a végleges mioneuralis junctio [4]. A 14—15. napon kezdődik és a 28—32. napra befejeződik a miotubusok átalakulása izomsejtekké. Ebben a periódusban a miotubusok centrális magjai a szarkolemma alá vándorolnak, s ezzel véget ér az izom-regenerációnak ez az útja.

4. *Az izom sejtmagvak redifferenciációja:* REZNIK írta le [51, 52], hogy a sérült izomsejtek magjainak egy része a szarkolemmát magára vonva, keskeny plazmaszegéllyel együtt elválik a pusztuló szarkoplazmától, s a mioblaszt sejtekhez hasonló (ill. azzal azonos) önálló sejtté válik. REZNIK leírását megerősítette ELYAKOVA, s hasonló szöveti elváltozásokkal gyakran találkoztunk magunk is [18]. Úgy véljük, hogy az izomsejtmag kiválásával és reaktivációjával létre jöhet egy mioblaszt-szerű sejt, mely a későbbiekben részt vesz a miotubus képzésben és izomregenerációban. REZNIK hideg hatására és mechanikus traumában figyelte meg ezeket a sejteket. Újabban azt találtuk, hogy a számos miopátiában előforduló „splitting" esetén a szarkoplazma ékalakú berepedéséhez a szomszédos sejtmag izolálódása és a sejttestről történő leválása csatlakozik [31]. Az izom sejtmagvak redifferenciációja és reorganizációja még nem kellően tisztázott, annyi azonban megállapítható, hogy *ez is egyik lehetséges módja a mioblaszt-képződésnek* és ezáltal az izomregenerációnak.

5. *A sérült izomsejtek hossznövekedése:* Az izomsejtek sérülése nem mindig érinti a teljes sejtet (maga az emberi izomsejt több cm hosszú is lehet), s így az esetek nagy részében előfordulhat, hogy a sérülés csak a sejt középső szegmentumát érintette, két vége megtartott, életképes. VARGA bizonyította, hogy a szívizomsejt sérülése, a sérült rész elhalása a discus intercalarisig terjed, az azon túllévő sejtrészlet életképes lehet. A vázizomban nincsenek ugyan discusok, azonban a sejt egy részének sérülése — ma még nem tisztázott módon — demarkálódik az életképes részektől [62, 63]. Az életképes sejtrészlet vége harangszerűen kiszélesedik, ebben a részben fokozódik az enzimtevékenység és sűrűsödnek a sejtmagok. NEUMANN klasszikus leírását [50] többen megerősítették, majd ALLBROOK és AITEN szellemes kísérlettel is igazolták [1]. ALLBROOK és mtsai a patkány m. tibialis anterior-jában (amely izom külön fascia rekeszben helyezkedik el) 48 órás vértelenséget hoztak létre a fő arteria lekötésével. Az izom proximalis része a fibula periosteuma

MAGYAR TUDOMÁNYOS AKADÉMIA KÖNYVTÁRA

felől, distalis része az ín felől kapott — elégtelen — vérellátást. Így az izom centrális részén teljes nekrozis, a két végén ischaemiás károsodás keletkezett. A keringés helyreállítása után a centrális, nekrotikus részek gyorsan revaszkularizálódtak, a végek felől pedig megindult az izomsejtek hossznövekedése, mely végülis áthidalta (ép izomrostokkal) a nekrotikus zónát.

Összefoglalva, azt mondhatjuk, hogy a sérült, de egy részükön életképesen maradt izomsejtek hossznövekedése jelentős tényező az izomregenerációban.

Hegképződés és izomregeneráció

Az izom mechanikus sérülését több kevesebb bevérzés, a kapillárisok sérülése kíséri. JÄRVINEN szerint [26] a roncsolt terület revaszkularizációja a 3. napon indul meg, az 5. napon már bőséges hajszálér hálózat mutatható ki és a 14. napra ez a folyamat befejeződik. A korai mobilizáció elősegíti, az immoblizáció gátolja a roncsolt terület újraereződését. A fibroblaszt proliferáció a 2—3. napon indul meg, a roncsolt terület szélei felől. Az 5—6. napon lehet kimutatni az első retikulin rostokat, s egy-két nappal később az éretlen kollagén rostokat. A fibroblaszt burjánzás, ill. a kötőszöveti rostképzés az izomsejtek, helyesebben az endomizium-hüvelyek között történik. Az izomsejtek újraképzése (akár szatellita sejt — mioblaszt, miotubus — akár az épen maradt izomsejtrészlet növekedése útján) az endomizium-hüvelyek felhasználásával, azok űrterében következik be. Ez a magyarázata, hogy optimális esetben (ilyen az esetek nagy többsége), a kötőszövetképződés nem gátolja az izomregenerációt [26]. Valószínűleg szükséges is a normális kötőszövetképződés, ez derül ki GALLUCCI és mtsai [21] kísérleteiből, akik lathyrismusos patkányok izomregenerációját vizsgálták. Az izombimbó képződés ugyan normális volt, azonban a miotubusok nem orientáltan helyezkednek el, amint a kötőszöveti rostképződés befejeztével a kötőszövetképződés lelassul (14. nap körül), majd fibroblasztok száma csökken, a kötőszöveti rostozat és alapállomány megfogyatkozik [3, 21, 24].

A revaszkularizáció elhúzódása (egyes immobilizált esetekben) kedvez a kötőszövetképződésnek és hátráltatja az izomsejt regenerációt. Ilyenkor a kötőszövet túlburjánzik minden egyes endomizium-hüvelyt vaskos gyűrűvel vesz körül, „lezárja" azokat, s a késve meginduló izomsejt regenerációt berekeszti. Így jönnek létre a nagy (de normális növekedésre képtelen) miogen óriássejtek.

Ha az izomsérüléshez ideg-lézió is társul, s az újonnan képzett miotubusok reinnervációja nem indul meg, neurogén impulzus hiányában az izombimbók nem fejlődnek tovább, ill. atrofizálódnak, s az izomsejtek körül vaskos kötőszöveti gyűrű képződik. Tulajdonképpen az izom elhegesedik. Ha az izom-ideg sérülés miatt megváltozik az izom fiziológiai funkciója, egyes miofibrilláris fehérjék is megváltozhatnak. A denerválás a miozin szerkezetében maradandó szerkezeti változást hoz létre. JÓZSA és mtsai kimutatták, hogy az emberi vázizom miozinjának könnyű láncai ínsérülés után megváltozhatnak [33].

Az izomregenerációt befolyásoló helyi tényezők

Úgy látszik az izomregeneráció sokkal több tényező függvénye, mint azt a korábbiakban vázoltuk. Az újraképződéshez nem elég a normális izomszövet-maradvány, a szatellita-sejtek, az ép beidegzés, hanem egyéb tényezőkre is szükség van.

1. Az izomtónus szerepére STUDITSKY vizsgálatai [58] hívták fel a figyelmet, aki megállapította, hogy csirkékben az izomregeneráció akkor is bekövetkezik, ha a m. biceps középső $^2/_3$-át távolítja el, s a végek között összeköttetést teremt. DIMITROVA [16, 17], majd LITVER [45] pedig kimutatták az izom regenerációs elégtelenségét, ha az izom distalis pólusát távolították el. CARLSON [7] szerint a teljes regeneráció, az izomrostok rendeződése csak akkor, ill. akkortól kezdve várható, ha létrejön az ín és izom közötti összeköttetés. DENNY-BROWN [15], valamint RUMYANTSEVA [53, 54] pedig kimondták, hogy az állandó izomtónus nemcsak segít a regenerátum belső architektúrájának kialakulásában, hanem az izom differenciálódást is pozitívan befolyásolja. Immobilizált állapotban, rövidített pozícióban csökken a fehérje mennyisége, míg meghosszabbított pozícióban ennek mennyisége megnő. Úgy tűnik, hogy a passzív nyújtás és az izometriás tenzió fokozza a fehérjeszintézist. JÓZSA és mtsa [32, 34] megállapították, hogy ha az állandó izomtónus megszűnik — pl. tenotomia esetén —, akkor az izmok rostösszetétele is megváltozik, a tónusos, 1 típusú rostok elpusztulnak. Ugyanők állapították meg, hogy ínsérülés esetén sem izomregeneráció, sem hegesedés nem következik be, csak az izom sorvadása észlelhető emberben [33]. STUDITSKY [55] kimutatta, hogy a szabad autotranszplantátumok is regenerálódnak, ha a beültetésük környezetében állandó tónus biztosítható. THOMPSON [61] ezt úgy hasznosította a gyógyászatban, hogy a faciális parézis miatt bénult oralis sphincterhez ültette be a szabadon transzplantált alkarizom (m. palmaris) inát, az izomhasat pedig a V. agyideg által innervált m. masseterbe transzplantálta. Az így transzplantált 17 alkarizom nemcsak regenerálódott, hanem reinnerválódott is, és tökéletes funkciót bizotsított.

2. A szövetek oxigén-ellátottsága: A korábbiakban már utaltunk rá, hogy mechanikus trauma esetén az erek is sérülnek, s kb. a 4—5. napon indul meg a rekapillarizáció és a keringés. JÄRVINEN [25] szerint a korai mobilizálás gyorsítja és fokozza, az immobilizáció gátolja az újraereződést, s azzal az izomregenerációt is. CORRIGAN [14] emberi izomtraumák kezelésében is azonnali mobilizációt tart szükségesnek a vér- ill. oxigénellátottság biztosítására. KIVISAARI és mtsai [38] emberi szövetek oxigén tenzióját 40 Hgmm körülinek találták, ezzel szemben patkányokban csak 25 Hgmm körüli értéket mértek. Saját kísérleteinkben azt találtuk, hogy a sérülést követő 7. napig alacsony az izom oxigén- és magas a CO_2-tenziója, majd a 20. nap táján állnak vissza a sérülés előtti értékek [36]. A seb- ill. sarjszövet oxigéntenzióját vizsgálva megállapították, hogy az a sérülés utáni 7. napig csökken, majd gyorsan emelkedik. KIVISAARI összefüggést talált a gyógyulás gyorsasága és a seb oxigén-tenziója között [39]. Kísérleti állatokban a lokális pO_2-vel arányosan változott a sarjszövet DNS tartalma, az oxidatív enzimaktivitás és a kollegén-képzés [64]. KIVISAARI azt is kimutatta, hogy nincs lineáris összefüggés az arteriás pO_2 és a szöveti pO_2 között [79]. Hipoxiában a szö-

veti pO_2 lényegesen nagyobb mértékben süllyed mint az arteriás pO_2, ezzel szemben hiperbáriás oxigénkezelés esetén sem emelkedik a szöveti oxigéntenzió proporcionálisan a vérrel. A sebgyógyulásra ezen belül az izomregenerációra akceleráló hatással van a szakaszos hiperoxigenizálás, esetleg hiperbárikus oxigénkezelés. Az utóbbi nemcsak a lokális pO_2 emelése révén hat, hanem gyorsítja az érújraképződést is, így többen ajánlják az intermittáló hiperbárikus oxigénkezelést kiterjedt, roncsolt izomsérülések gyógykezelésére. (A hiperbárikus oxigénkezelés egyéb előnyös hatásairól most nem beszélünk.)

3. A vérellátás és az idegek szerepe az izomregenerációban: A korábbiakban már többször szóltunk a vérellátás és beidegzés fontosságáról, s arról is, hogy sérüléskor mindkettő roncsolódik, regenerációjuk előfeltétele az izom újraképződésének is. Röviden szólunk arról az újabb modellről, mely lehetővé teszi az izomregeneráció gyorsaságának megítélését. SOKOLL és mtsai állapították meg, hogy a bupivacain (más néven marcain) elnevezésű helyi érzéstelenítő szer alkalmazása gyors és tökéletes izompusztulást okoz, anélkül, hogy az erek és idegek károsodásának morfológiai és/vagy funkcionális jelei kimutathatók lennének [57]. BENOIT és mtsai [5], valamint LIBELIUS és mtsai [44] szerint a bupivacain úgy okoz izomnekrózist, hogy közben a bazálmembránok is épen maradnak. Utalunk itt VOLKMANN [65] megállapítására, miszerint gyorsabb azon izomsejtek regenerációja melynek bazálmembránja épen marad. HIRMANOVA és mtsai azt találta [37], hogy bupivacain okozta izomnekrózis regenerációja fele-harmada annyi időt vesz igénybe, mint a traumás izomnekrózisé, azaz az erek és idegek sérülése s talán a bazálmembrán pusztulása kétháromszorosra megnyújtja az újraképződés idejét. KLISHOV azt találta, hogy a novocain gyorsítja a mioblaszt proliferációt (a sejtmagok száma tízszeres volt a novocainnal kezelt izmokban a sérülés utáni 7. napon, mint a kezeletlen sérült izomban) és ezáltal felére rövidíti le a regenerációs időt [40]. E megfigyelések jól mutatják egyfelől az erek és idegek szerepét, másfelől azt, hogy a regenerációt lehet gyógyszeresen befolyásolni. Ugyanakkor bíztatóak ezek az észlelések abból a szempontból, hogy a hasonló szöveti elváltozást okozó, egyre szaporodó, gyógyszeres (pl. Plasmocid miopathia) és vegyszeres (pl. p-fenilén-diamin) miopatiák gyógyhajlama jobb lehet mint a mechanikus izomsérüléseké.

IRODALOM

1. ALLBROOK, D. B. and AITKEN, J. T. (1951) Reinnervation of striated muscle after acute ischaemia. *J. Anat.*, **85**, 376—390.
2. ALLBROOK, D. B. (1962) An electron microscopic study of regenerating skeletal muscle. *J. Anat.*, **96**, 137—152.
3. ALLBROOK, D. B., BAKER, W. C. and KIRKADY-WILLIS, V. H. (1966) Muscle regeneration in experimental animals and in man. *J. Bone Joint Surg.*, **488**, 153—169.
4. ALLBROOK, D. B. (1973) Muscle regeneration. *Physiotherapy*, **59**, 240—247.
5. BENOIT, P. W. and BELT, W. D. (1970) Destruction and regeneration of skeletal muscle after treatment with a local anasthetic bupivacaine (Marcaine). *J. Anat.*, **107**, 547—556.
6. BIZZOZERO, G. (1973) *British Med. J.*, **728**, 1894. cit. by ALLBROOK, D. B. in *Physiotherapy*, **59**, 240—247 (1973).

7. Carlson, D. M. (1968) Regeneration of the completely excised gastrocnemius muscle in the frog and rat form minced muscle fragments. *J. Morph.*, **125,** 447—471.
8. Carlson, B. C. (1972) *The regeneration of minced muscles.* Karger A. G., Basel.
9. Carlson, B. C. (1973) The regeneration of skeletal muscle. A review. *Am. J. Anat.*, **137,** 119—150.
10. Chiakulas J. J. and Pauly, J. E. (1965) A study of postnatal growth of skeletal muscle in rat. *Anat. Rec.*, **152,** 55—62.
11. Chou, S. and Nonska, I. (1977) Satellite cells and muscle regeneration in diseased human muscles. *J. Neurol. Sci.*, **34,** 131—145.
12. Church, J. C. T., Noronha, R. E. X. and Allbrook, D. B. (1966) Satellite cells and skeletal muscle regeneration. *J. Anat.*, **106,** 153—161.
13. Clark, W. E. L. (1946) An experimental study of the regeneration of mammalian stuped muscle. *J. Anat.*, **80,** 24—47.
14. Corrigan, A. B. (1965) The immediate treatment of muscle injuries in sportmen. *Med. J. Aust.*, **1,** 926—928.
15. Denny-Brown, D. (1951) The influence of tension and innervation on the regeneration of skeletal muscle. *J. Neuropath. Exper. Neurol.*, **10,** 94—95.
16. Dimitrova, A. (1958) Regeneration of muscle in mammals. *Dokl. Bolg. Akad. Neuk.*, **11,** 153—155.
17. Dimitrova, A. (1959) The regeneration of amputated muscles in mammals. *Izvestis Inst. Morfol. Bulg. Akad. Nauk.*, **13,** 165—173.
18. Elyakova, G. V. (1972) Electron microscopic investigation of the formation of myoblast in regenerating muscular tissue. *Dokl. Akad. Nauk. Sz. Sz. Sz.* R., **202,** 1196—1198.
19. Fischman, D. (1970) The synthesis and assembly of myofibrils in embryonic muscle. *Curr. Topic. Devel. Biol.*, **5,** 235—280.
20. Földes, V. (1965) Signs of fresh vital injury in striated muscles. *Acta Morph. Acad. Sci. Hung.*, **13,** Suppl. 80,
21. Galluci, V., Novello, V., Margreta, A. and Aloisi, M. (1966) Biochemical correlates of discontinous muscle regeneration in the rat. *Brit. J. Exp. Path.*, **47,** 215—227.
22. Haywood, S. M. and Rich, A. (1963) *In vitro* synthesis of native myosin, actin and tropomyosin from embrionic chick polyribosomes. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, **59,** 590—597.
23. Illingworth, C. and Dick, B. M. (1973) *Textbook of surgycal pathology.* (Dissease of muscle, tendon sheaths and bursae). Churchill, London.
24. Järvinen, M. (1965) Healing of crush injury in rat striated muscle. 2. A histological effect of early mobilisation and immobilisation on the repair processes. *Acta path. microbiol. Scand. Sect. A.*, **82,** 269—283.
25. Järvinen, M. (1976) *Healing of crush injury in rat striated muscle.* Univ. Press, Turku.
26. Järvinen, M. (1976) Healing of crush injury in rat striated muscle. 3. A microangiographical study of the effect of early mobilisation and immobilisation on the capillary ingrowth. *Acta path. microbiol. Scand. Sect. A.*, **84,** 85—94.
27. Järvinen, M. and Sorvari, T. (1976) A histochemical study of the effect of mobilisation and immobilisation on the metabolism of healing muscle injury. Internat. Congr. of Physical Activities Sciences, Québeck.
28. Józsa, L. (1973) Studies on traumatic muscle lesions of rat. *Acta Morph. Acad. Sci. Hung.*, **14,** Suppl 45,
29. Józsa, L. (1974) Histochemical study of traumatized muscle. *Folia Histochem. Cytochem.*, **12,** 157—160.
30. Józsa, L. and Földes, V. (1974) Tompa erőbehatásra létrejövő vázizomsérülés morphológiai vizsgálata. 1. Fénymikroszkópos vizsgálatok. *M. Traumat.*, **17,** 206—213.
31. Józsa, L. (1979) Az emberi vázizmok elváltozásai ín- és idegsérülés után. Doktori értekezés. Budapest.
32. Józsa, L. and Réffy, A. (1978) Ultrastructural study the crush injured human muscles. *Rechtsmedizin*, **82,** 145—152.
33. Józsa, L., Demel, S., Bálint, B. J. and Réffy, A. (1978) Histochemical and ultrastructural alterations in human muscles after spontaneous rupture of tendon. *Acta Histochemica*, **63,** 61—73.
34. Józsa, L., Bálint, B. J., Demel, S., Réffy, A. and Szilágyi, I. (1979) Histochemical and quantitativ morphometrical study of human muscles after tenotomy or spontaneous rupture of tendon. *Folia Histochemica*, **17,** 31—44.
35. Józsa, L., Bálint, B. J., Demel, S., Réffy, A. and Szilágyi, I. (1979) Ínsérülést követő morphológiai elváltozások emberi izmokban. *Morph. Igazs. Orv. Szle.*, **19,** 216—225.
36. Józsa, L., Réffy, A., Demel, Zs., Szilágyi, I. and Szabó, Gy. J. (1979) A szöveti oxigén (pO_2) és széndioxid (pCO_2) tenzió mérésének lehetőségei. *Anasth. Int. Ther.*, **9,** 57—64.

37. JIRMANOVA, I. and THESLEFT, S. (1972) Ultrastructural study of experimental muscle degeneration and regeneration in the adult rat. *Z. Zellforsch.*, **131**, 77—97.
38. KIVISAARI, J. and NINIKOSKI, J. (1973) Use of silastic tube and capillary sampling technic in the measurement of tissue pO_2 and pCO_2. *Am. J. Surg.*, **125**, 623—627.
39. KIVISAARI, J. (1975) *Oxygen and tissue repair.* Univ. Press, Turku.
40. KLISHOV, A. A. (1971) *Histogenesis regeneration and tumorous growth of skeletal muscle tissue.* Meditsina, Leningrad.
41. KONIGSBERG, I. R. (1961) Some aspects of myogenesis *in vitro*. *Circulation*, **24**, 447—461.
42. KROMPECHER, S. (1963) Hypoxia tissularie locale, alterion consecutive du metabolisme et formation du mucopolysaccharides. *La Presse Med.*, **71**, 1937.
43. LEVANDER, G. (1964) *Introduction fenomena in tissue regeneration.* Williams and Wilkins, Baltimore.
44. LIBELIUS, R. B., SONESSON, B., STAMENOVIC, A. and THESSEFF, S. (1970) Denervation-like changes in skeletal muscle after treatment with a local anasthetic (Marcaine). *J. Anat.*, **106**, 297—309.
45. LITVER, G. M., DAMPEL, N. N., SIMELSON, J. B. and KOSTKIN, V. B. (1961) Organic regeneration of skeletal muscles in rats. *Bull. Exp. Biol. Med.*, **52**, 101—105.
46. MAURO, A. (1961) Sattllite cells of skeletal muscle fibers. *J. Biophys. Biochem. Cytol.*, **9**, 493—495.
47. MILLER, F. M. cit. by ALLBROOK, D. B. in *Psychotheraphy*, **59**, 240—247 (1973)
48. MOSS, F. P. and LEBLOND, C. P. (1971) Satellite cells as the source of nuclei in muscles of growing rats. *Anat. Rec*, **170**, 421—436.
49. MÖTTÖNEN, M., KARKOLA, K., NIEMINEN, L. and BJONDAHL, K. (1972) Histochemical and histological studies of rat myocardium following mechanical compression. *Exp. Path.*, **7**, 159—165.
50. NEUMAN, C., cit. by ALLBROOK, D. B. in *Physiotherapy*, **59**, 240—247 (1973).
51. REZNIK, M. (1969) Origin of myoblasts during skeletal muscle regeneration. *Lab. Invest.*, **20**, 353—363.
52. REZNIK, M. (1970) Satellite cells, myoblasts and skeletal muscle regeneration. *In:* MAURO, A., SHAFIQ, S. A. and MILHORAT, A. I. (eds.) *Regeneration of striated muscle and myogeneis* Excerpta Media, Amsterdam, 133—156.
53. RUMYANTSAVA, O. N. (1959) New development of minced muscle tissue transplanted under the skin. *Doklady Akad. Nauk. Sz. Sz. Sz. R.*, **125**, 435—438.
54. RUMYANTSEVA, O. N. (1960) New data on the role of tension on the differentiation of myogenous tissue. *Arkh. Anat. Gistol. Embriol.*, **39**, 51—59.
55. SCHIAFFINO, S., BORMIOLI, S. D. and HISI, M. (1976) The fate of newly formed satellite cells during compensatory muscle hypertrophy. *Virchows Arch. B. Cell Path.*, **21**, 113—118.
56. SCHMINCKE, G. cit. by ALLBROOK, D. B. in *Physiotherapy*, **59**, 240—247 (1973)
57. SOKOLL, M. D., SONESSON, B. and PHESLEFF, S. (1968) Denervation changes produced in an innervated skeletal muscle by longcontinued treatment with a local anasthetic. *Europ. J. Pharmocol.*, **4**, 179—187.
58. STUDITSKY, A. N. (1949) Regeneration of the biceps muscle in birds. *Doklady Akad. Nauk. Sz. Sz. Sz. R.*, **44**, 391—394.
59. STUDITSKY, A. N. (1964) Free auto and homografts of muscle tissue in experiments on animals. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **120**, 789—801.
60. TERÄVÄINEN, H. (1970) Satellite cells of striated muscle after compression injury so slight as not to cause degeneration of the muscle fibers. *Z. Zellforsch.*, **87**, 249—265.
61. THOMPSON, N. (1971) Autogenous free grafts of skeletal muscle. *Plast. Reconstr. Surg.*, **48**, 11—27.
62. VARGA, T., SOMOGYI, E. and SOÓS, J. (1975) Szívizom mechanikus sérüléseinek elektronmikroszkópos vizsgálata. *Morph. Ig. Orv. Szemle*, **15**, 92—96.
63. VARGA, T., SZINAY, Gy., SOÓS, J. and KÖVES, J. (1973) Heart muscle changes after open heart surgery. *Acta Morph. Acad. Sci. Hung.*, **21**, 213—224.
64. VIHERSAARI, I., KIVISAARI, J. and NIINIKOSKI, J. (1974) Effect of changes in inspired oxygen tension on wound metabolism. *Ann. Surg.*, **179**, 889—895.
65. VOLKMANN, R. (1893) Über die Regeneration des quergestreiften Muskel-gewebes beim Menschen und Säugetier. *Beitr. Path. Anat.*, **12**, 233—332.
66. WAGNER, K. R., CARLSON, B. M. and MAX, S. R. (1977) Developmental patterns of glycolytic enzymes in regenerating skeletal muscle after autogenous free grafting. *J. Neurological Sciences*, **34**, 373—390.
67. WALKER, B. E. (1962) A radioautographic study of muscle regeneration in dystrophic mice. *Amer. J. Path.*, **41**, 41—53.

68. WALDEYER, W. (1865) Über die Veränderungen der querstreiften Muskeln bei der Entzündung und dem Typhusprozess, sowie über die Regeneration derselben nach Substanzdefecten. *Arch. Path. Anat.*, **34**, 473—514.
69. WEBER, C. O. (1865) Über die Regeneration quergestreiften Muskelfasern. *Z. med. Wissenschaft.*, No. **34**,
70. ZENKER, F. A. (1864) *Über die Veränderungen der wirkurlichen Muskeln im Typhus abdominalis.* C. W. Vogel, Leipzig.
71. ZHINKIN, L. N. and ANDREEVA, L. F. (1963) DNA synthesis and nuclear reproduction during embryonic development and regeneration of muscle tissue. *J. Embryol. Exp. Morph.*, **11** ,353—367.

REGENERATION OF THE HUMAN SKELETAL MUSCLES

L. Józsa, E. Vándor, A. Réffy, S. Demel, I. Szilágyi and *Gy. J. Szabó*

National Institute of Traumatology, Budapest,
Hungary

The notion that skeletal muscle, being a complex, highly differentiated tissue, is incapable of regeneration is still often taught. But ZENKER (1864) in his classical paper on muscle changes in typhoid fever, described muscle fiber regeneration. The muscle fiber regeneration from myoblasts placed round the necrotic fibre which gave rise to ribbon-like formations (myotubes) wich finally became mature muscle fibers. Cell's giving rise to new fibers within the wreckage of the old seemed to come from the general region of the endomysial sheath surrounding a muscle fiber. He noted nuclear division and fusion of the daughter cells to form a syntitium of ribbon-like elements, with represent the transition to mature muscle fibers. It is worth recalling WALDEYER's findings and interpretation, because for a whole century they were forgotten-overlaid by other notions, such as opionin BIZZOZERO (1894) „. . . regeneration as takes places in very limited, and can have no influence on the functional perfection of the muscle, since the cicatrix is almost exclusively of connective tissue". The ability of adult skeletal muscle fibers to regenerate after injury is now accepted.

This paper describes the main histological, histochemical and ultrastructural changes in muscle that follow direct injury and regeneration to soft tissue associated with a bone fracture in man.

Biológia, **28**, 1980 107—113

OXIDÁCIÓS ÉS REDUKCIÓS VÁLTOZÁSOK INDIREKT INGERELT BÉKAIZMOK ELEKTROMOS INGERLÉSE SORÁN

PRÁGER PÉTER, PUPPI ANDRÁS és DELY MÁTYÁS

Pécsi Orvostudományi Egyetem
Központi Állatkísérleti Laboratóriuma, Pécs

Beérkezett: 1979. szeptember 18-án

Kulcsszavak: redox reguláció, vázizom, indirekt ingerlés

Bevezetés

Számos biológiai objektumon bizonyították, hogy az elektronleadásnak, illetve elektronfelvételnek, azaz az oxidációnak, illetve redukciónak, más szóval a szöveti redox állapotnak jelentős funkcionális szerepe van a szövetek, szervek működésében [1—4, 6—9, 11, 15—17]. Mint közismert, a filogenezis során a szervek működési folyamatai mind nagyobb és nagyobb specifitásra tettek szert, s ez a funkcionális differenciálódás természetesen kiterjedt az egyes szervek redox státuszára is. Utóbbit jól bizonyítják saját [14] adataink, miszerint a szív kb. 60 mV-tal redukáltabb szerv, mint a harántcsikolt izom. PUPPI és mtsai [12, 13] bizonyították, hogy az acetilkolin (ACh) fenti két szerven tapasztalt ellentétes hatása elsősorban a redox státusz-beli különbségnek tulajdonítható, s a redox állapot mesterséges eltolásával az ACh-hatás serkentő, illetve gátló iránya megfordítható. Miután az említett ingerlékeny szövetek eltérő ACh-indukált ingerületi viselkedésében döntő faktornak bizonyult a szöveti redox státusz, felvetődik a kérdés, hogy az egyes ingerületi folyamatokban milyen redox változások vesznek részt, illetve az ingerületi folyamatok hogyan függnek a redox állapottól.

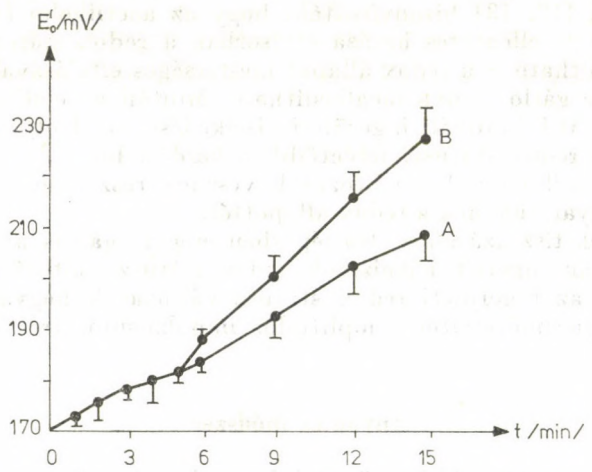
E kérdések tisztázásához első lépésben megvizsgáltuk az idegen keresztül, elektromosan ingerelt békaizmok redox státusz változásait. Vizsgáltuk továbbá, hogy az ingerületi redox státusz változások hogyan függenek az ingerlő áram paramétereitől (amplitudó, impulzusidő, frekvencia, ingerlés időtartama).

Anyag és módszer

Kísérleteinket 150—200 g tömegű kecskebékák nervus ischiadicus-musculus gastrocnemius preparátumain végeztük. Minden béka egyik oldali idegizom preparátumát ingerlésre, a másikat kontroll mérésre használtuk fel. A preparátumokat két rekeszre osztott preparátum-tartóba helyeztük, egyik

Az Eü. M. 303-1/2 sz. idegrendszeri kutatások megnevezésű tárcaszintű kutatási fő irányhoz elfogadott „A biofázis redox állapotának szerepe az ingerületi és gátlási folyamatokban" című témában végzett kutatómunka alapján (3-14-0303-01-2/p).

rekeszbe az ideg, a másikba az izom került. Az ideg ingerlését 0,5 mm átmérőjű extracelluláris platina elektródokon keresztül négyszöghullámú áramgenerátor segítségével végeztük. Az impulzusok intenzitását 0,15 mA-től 0,75 mA-ig, a frekvenciáját 0,5 imp/s-tól 2,0 imp/s-ig, az impulzusidőt 0,05 ms-tól 0,25 ms-ig változtattuk. Az ingerlő (ideget tartalmazó) rekeszt plexi, gumimembrán és vazelin segítségével szigeteltük a második rekesztől. Utóbbiban történt az izom elektromos aktivitásának és redox állapot potenciáljának (E_0') regisztrálása. Az elektromos aktivitást (akciós potenciált) extracelluláris platina elektródok segítségével oszcilloszkópon regisztráltuk, illetve fotóztuk. Az ingerlő kikapcsolt állapotában került sor az E_0' mérésére. Az E_0' mérése a CATER és mtsai [2] által leírt potenciometriás metodikával történt, melynek lényege, hogy az izomszövetbe beszúrtunk egy elektrolitikusan kihegyezett platina elektródot [5], amely hegyének szögviszonyai olyanok voltak, hogy a rostokat széttolta, s a legkisebb rostsértést eredményezte. A rostok közé szúrt elektród képezte az E_0'-mérő elektródot, míg referenciául az inkubáló oldatba helyezett Ag/AgCl elektród szolgált. A platina és ezüst elektródok Ringer-oldatban fellépő elektród-potenciálját a mérések előtt kompenzáltuk, majd a platina elektródot az izom extracelluláris terébe süllyesztettük, ahol egy jól definiált potenciált vett fel. A platina felvesz vagy lead elektront a szöveti és oxidációs folyamatok állapotának megfelelően, egészen az egyensúly beálltáig, s a platina és ezüst elektród között fellépő potenciálkülönbség a szövet pillanatnyi redox állapot potenciálja. Az általunk mért E_0' tulajdonképpen a szövetek extracelluláris terének redox állapot potenciálja, de ez SHAPIRO [15] szerint az intracelluláris redox változások hű tükörképe.



1. ábra. Nyugalomban lévő és indirekt ingerelt békaizmok redox állapot potenciáljának (E_0') változása az inkubálási idő függvényében. *A görbe:* Ingerlés nélküli (kontroll) izom redox állapot változása; *B görbe:* 0,3 mA-es, 0,1 ms-os, 1 imp/s-os paraméterekkel történő indirekt ingerlés az 5.-től a 15. percig

Fig. 1. Changes of the redox state potential (E_0') of the resting and indirectly stimulated frog muscles plotted against the incubation time. *Curve A:* Changes of E_0' of the non-stimulated (control) muscles; *Curve B:* Stimulation from the 5th to 15th minutes with 0.3 mA, 0.1 ms, 1 imp/sec

Az inkubálást 10—10 ml TRIS segítségével 7,4 pH-ra beállított normál Ringer-oldatban végeztük, amelynek összetétele az alábbi volt: 13,2 g NaCl, 0,4 g KCl, 0,4 g $CaCl_2$ 2000 ml kétszer desztillált vízben feloldva.

Az eredményeket 10—10 izmon mért értékek átlagával és a középérték középhibájával adtuk meg. A biometriai értékelést kétmintás t-próbával és korrelációs-számítással végeztük.

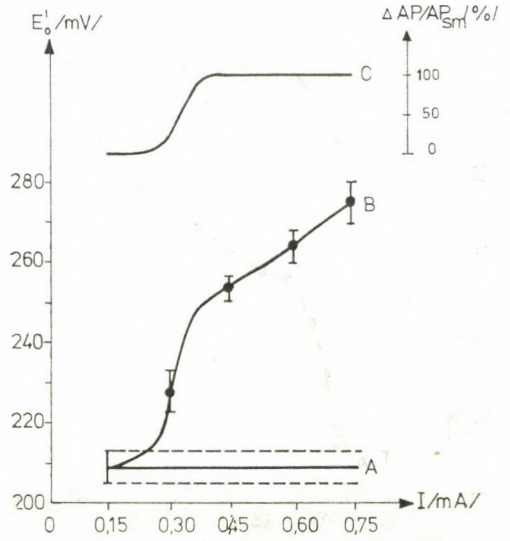
Eredmények

Első kísérleteinkben vizsgáltuk az indirekt ingerelt békaizmok redox állapot potenciáljának (E_0') függését az inkubálás idejétől *(1. ábra)*.

Eredményeink szerint az ingerlésmentes (kontroll) izmok E_0' változása lineáris, 170 mV-ról 209 mV-ra emelkedik a 15 perces inkubálási idő alatt *(1/A görbe)*. A 0,3 mA-es, 0,1 ms-os, 1 imp/s-os paraméterekkel történő, az 5.-től a 15. percig tartó indirekt ingerlés az E_0'-t 227 mV-ra növeli *(1/B görbe)*.

Ezt követően vizsgáltuk az indirekt ingerelt békaizmok E_0'-jének függését az elektromos ingerlő impulzusok intenzitásától *(2. ábra)*.

Eredményeink szerint az indirekt ingerelt békaizmok E_0'-je emelkedik az ingerintenzitás fokozásával *(2/B görbe)*. A kapott függvény tulajdon-



2. ábra. Nyugalomban lévő és indirekt ingerelt békaizmok redox állapot potenciáljának (E_0') változása az ingerlő áram intenzitásának (I) függvényében. *A görbe:* Ingerlés nélküli (kontroll) izom redox állapot változása; *B görbe:* 0,1 ms-os, 1 imp/s-os 15 perces paraméterekkel történő indirekt ingerlés 0,15 mA-es inger intenzitástól 0,75 mA-esig; *C görbe:* az izomról elvezetett relatív szummációs akciós potenciál ($\Delta AP \cdot AP_{sm}^{-1}$)

Fig. 2. Changes of the redox state potential (E_0') of the resting and indirectly stimulated frog muscles plotted against the intensity of the stimulating current (I). *Curve A:* Changes of E_0' of the non stimulated (control) muscles; *Curve B:* Stimulation with 0.1 msec, 1 imp/sec for 15 min changing the intensity from 0.15 mA to 0.75 mA; *Curve C:* The relative summation action potential of muscles ($\Delta AP \cdot AP_{sm}^{-1}$)

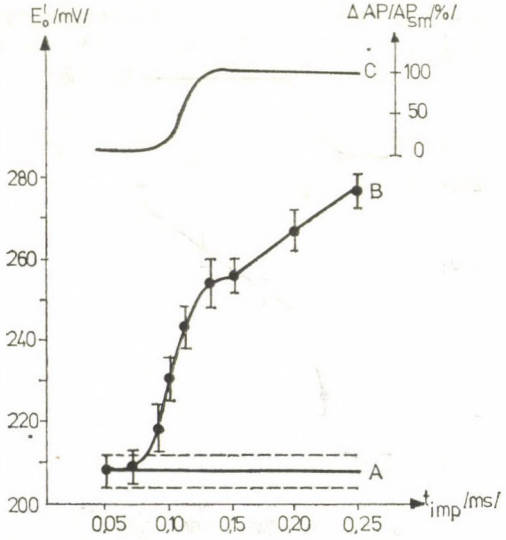
képpen egy módosított szaturációs görbe, amely — fáziskéséssel ugyan, de — némi szinkronitást mutat a relatív szummációs akciós potenciál görbéjével. A legnagyobb szubminimális inger alkalmazása esetén 0,06 mA-rel, az 50 %-os (statisztikus) küszöbinger esetén 0,03 mA-rel előzi meg az E_0'-ben bekövetkezett változás (*2/B görbe*) a relatív szummációs akciós potenciál (*2/C görbe*) megfelelő szakaszát. Az E_0' függvényt a szupramaximális szakaszon tovább emelkedik (lineárisan).

Következő lépésben vizsgáltuk az indirekt ingerelt békaizmok E_0'-jének függését az elektromos inger impulzusidejétől *(3. ábra)*. Ezen adataink szerint az impulzusszélességtől ugyanúgy függ a szöveti redox státusz, mint az intenzitástól. Az indirekt ingerelt izmok E_0'-je növekszik az impulzusidő fokozásával *(3/B görbe)*. Ez az E_0' emelkedés — az előbbihez hasonlóan — nagyfokú szinkronitást mutat a relatív szummációs potenciál *(3/C)* görbével.

Ezen kísérletek is alátámasztják, hogy az akciós potenciált megelőzi a redox állapot potenciál változása.

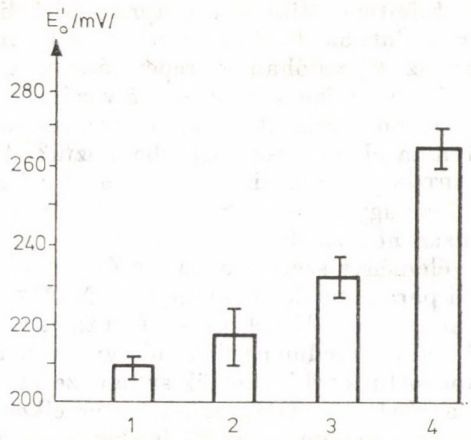
Végül megvizsgáltuk, hogy az indirekt ingerelt békaizmok E_0'-jét befolyásolja-e a négyszögimpulzusok frekvenciája *(4. ábra)*.

Eredményeink szerint a kontrollhoz képest (209 ± 3 mV) a 0,5 imp/s-os jellel ingerelt izmok E_0-je 217 ± 7 mV-ra, az 1,0 ms-osoké 232 ± 5 mV-ra,



3. ábra. Nyugalomban lévő és indirekt ingerelt békaizmok redox állapot potenciáljának (E_0') változása az ingerlő áram impulzus idejének (t_{imp}) függvényében. *A görbe:* ingerlés nélküli (kontroll) izom redox állapot változása; *B görbe:* 0,3 mA-es 1 imp/s-os, 15 perces paraméterekkel történő indirekt ingerlés 0,05 ms-os impulzus szélességtől 0,25 ms-osig; *C görbe:* az izomról elvezetett relatív szummációs akciós potenciál ($\Delta AP \cdot AP_{sm}^{-1}$)

Fig. 3. Changes of the redox state potential (E_0') of the resting and indirectly stimulated frog muscles plotted against the duration of the stimulatory current (t_{imp}). *CurveA:* Changes of E_0' of the non stimulated (control) muscles. *Curve B:* Stimulation with 0.3 mA, 1 imp/sec for 15 min, changing the t_{imp} from 0.05 msec to 0.25 msec; *Curve C:* The relative summation action potential of muscles ($\Delta AP \cdot AP_{sm}^{-1}$)



4. ábra. Nyugalomban lévő és indirekt ingerelt békaizmok redox állapot potenciáljának (E_0') változása az ingerlő impulzusok frekvenciájának függvényében. *1. oszlop:* ingerlés nélküli (kontroll) izom redox állapot potenciálja; *2. oszlop:* 0,5 imp/s-os, (0,3 mA-es, 0,1 ms-os, 15 perces) indirekt ingerlés; *3. oszlop:* 1,0 imp/s-os indirekt ingerlés; *4. oszlop:* 2,0 imp/s-os indirekt ingerlés redox állapot potenciálja

Fig. 4. Changes of the redox state potential (E_0') of the resting and indirectly stimulated frog muscles plotted against the changes in frequency of stimulation. *Column 1.* E_0' of the non stimulated (control) muscles; *Column 2.* E_0' values following indirect stimulation with 0.5 imp/sec (0.3 mA, 0.1 msec, for 15 min); *Column 3.* Indirect stimulation with 1 imp/sec; *Column 4.* Indirect stimulation with 2 imp/sec.

s a 2,0 imp/s-osoké 265 $\pm$ 5 mV-ra emelkedett. Az ingerimpulzusok frekvenciája és a kapott E_0'-értékek változásai között igen szoros korreláció ($r = 0{,}97$) mutatkozott.

Megbeszélés

A béka ideg-izom preparátumok idegének elektromos ingerlése során a redox állapot potenciál (E_0') szignifikánsan ($p < 0{,}001$) emelkedett. Az ingerlő impulzusok intenzitásának vagy impulzusidejének, illetve frekvenciájának növelése az E_0' fokozódását eredményezte. Tehát az izomaktivitás emelkedése az E_0'-t pozitív irányba tolta el, amely az izomaktivitással együttjáró metabolizmus oxidatív irányú eltolódásával magyarázható. Az E_0' változása azonban nem feltétlenül arányos az aktivitással, hiszen a szupramaximális szakaszon az inger intenzitásának további emelése az akciós potenciált természetesen tovább nem emeli, viszont az E_0'-t jelentősen fokozza. Ezen utóbbi jelenség egy érdekes redox regulációs mechanizmus létezésére utal. Az izomaktiválódással együttjáró oxidációs eltolódást — mint ismeretes — az izom kimerülési tendenciája követi, vagyis csökken a munkavégzési igény kielégíthetősége. Korábbi eredményeink szerint az ingerületi folyamattal együttjáró, sőt azt valamennyivel megelőző oxidózis képes egy újabb lehetőséget biztosítani az akkomodációra, nevezetesen az oxidózis — a kimerülés fokozódásának ellensúlyozására — depolarizálja az izommembránt, csökkentve annak ingerküszöbét, s növelve az acetilkolin iránti érzékenységét. Ennek következménye, hogy az izom hosszú ideig képes ugyanakkora szupra-

maximális aktivitást kifejteni. Miután a szupramaximális ingerlésnél tapasztaltuk, hogy az ingerlés alatt az idő függvényében az E_0' tovább nő, alátámasztottnak véljük, hogy az E_0' valóban szerepet játszik az ingerület, illetve a kontrakció fenntartási mechanizmusának szabályozásában.

Kérdéses, hogy a módszerünkkel kapott eredményeket szabad-e egyáltalán biokémiai folyamatokkal összefüggésbe hozni? Ismeretesek előttünk ZINCHENKO [18] és LIPTON [10] adatai, melyek szerint a *Rana temporaria* izmainak, illetve tengerimalac agyszövetének ingerlését követően a $NAD^+/NADH_2$ hányados szignifikánsan növekszik.

SHAPIRO [15] véleménye szerint a CATER és mtsai [2] által alkalmazott E_0' mérés a biokémiai paraméterek közül éppen a $NAD^+/NADH_2$ hányadossal mutat legszorosabb korrelációt. Mivel mi is a CATER és mtsai féle módszert alkalmaztuk, továbbá mérési eredményeink jól egyeznek a fenti irodalmi adatokkal, ezért megalapozottnak tekinthetjük azt a nézetet, miszerint az E_0' emelkedés gyakorlatilag a $NAD^+/NADH_2$ hányados emelkedésével arányos. Nem zárható ki természetesen további — az E_0' értékét befolyásoló — redox metabolitok változása sem.

Felvetődik továbbá még egy kérdés, nevezetesen hogy az E_0' változás az ingerülettel vagy a kontrakció mechanizmusával kapcsolatos-e? Miután azonban egyik kísérletünk szerint az E_0' akkor is nő, amikor minden rost kontrahált állapotban van, megerősíti azt a hipotézist, hogy az E_0' változás részben az ingerülettel, részben pedig a kontrakcióval kapcsolatos. Erre a kérdésre későbbi kísérleteinkben szeretnénk választ találni.

Végül felvetődik még egy probléma, nevezetesen, hogy az indirekt ingerlés közben kapott E_0' változás nem pusztán egy sértési potenciál-e? Erre vonatkozólag itt megjegyezzük, hogy még nem közölt adataink szerint a direkt ingerrel történő ingerlés egész más jellegű E_0' változásokat eredményez, melyről majd a későbbiek során számolunk be.

Az e dolgozatunkban foglaltakat a későbbi kísérleteinkhez kívánjuk kontrollként felhasználni, illetve közrebocsátani.

Összefoglalás

Kísérleteinkben *in vitro* körülmények között végzett, indirekt (= idegen keresztül) ingerelt vázizmok redox állapot potenciál (E_0') változásait vizsgáltuk különböző ingerlési paraméterek függvényében. Eredményeink szerint az izomaktivitás emelése az E_0'-t pozitív irányba tolta el, amely az izomaktivitással együttjáró metabolizmus oxidatív irányú eltolódásával magyarázható.

Jelen kísérleteink és korábbi adataink alapján arra következtettünk, hogy a redox státusz, illetve annak változása regulációs szerepet tölt be az izom kimerülési folyamatainak ellensúlyozásában. E dolgozatunk eredményeit azon későbbi kísérleteink kontrolljául szántuk, amelyekben az ingerületi folyamatok redox státusz függését vizsgáltuk.

IRODALOM

1. BEN-HAIM, D., LANDAU, E. M. and SILMAN, I. (1973) The role of a reactive disulphide bond in the function of the acetylcholine receptor at the frog neuro-muscular function. *J. Physiol. (Lond.)*, **234**, 305—325.

2. Cater, D. B., Phillips, A. F. and Silver, I. A. (1957) The measurement of oxidation-reduction potentials, pH, and oxygen tension in tumours. *Proc. Roy. Soc.*, B **146,** 382—396.
3. Chance, B., Cohen, P., Jobsis, F. and Schoener, B. (1962) Intracellular oxidation-reduction states *in vivo*. *Science*, **137,** 499—503.
4. Dikstein, S. (1971) Stimulability, adenosine triphosphate and their control by cellular redox processes. *Naturwissenschaften*, **58,** 439—443.
5. Fatt, I. (1964) An ultramicro oxygene electrode. *J. Appl. Physiol.*, **19,** 326—329.
6. Kenney, E. B. and Ash, M. M. (1969) Oxidation-reduction potential of developing plaque, periodontal pockets and gingival sulci. *J. Peridont.*, **40,** 630—640.
7. Krebs, H. A. (1967) Role of the redox state of nicotinamide adenine dinucleotides in the regulation of metabolic processes. *In:* Stulberg, M. P. (ed.): *Enzymatic Aspects of Metabolic Regulation.* NCI Monograph **27,** National Cancer Inst., Bethesda.
8. Krebs, H. A. and Veech, R. L. (1970) Regulation of the redox state of the pyridine nucleotides in rat liver *In:* Sund, H. (ed.): *Pyridine Nucleotide-Dependent Dehydrogenases.* Springer-Verlag, New York.
9. Laborit, H. (1965) *Les regulations metaboliques.* Masson et Cie, Paris.
10. Lipton, P. (1973) Effects of Membrane depolarization on nicotinamide nucleotide fluorescence in brain slices. *Biochem. J.*, **136,** 999—1005.
11. Mitchell, J. S. (1960) *Studies in Radiotherapeutics.* Harvard University Press, Cambridge.
12. Puppi, A., Szalay, L. and Dely, M. (1976) Comparison of the redox state of different tissues and the types of acetylcholine effect. *Acta Biochim. Biophys. Acad. Sci. Hung.*, **11,** 63—73.
13. Puppi, A., Tigyi, A. and Szalay, L. (1968) Effect of environmental oxido-reduction on the action of acetylcholine. *Acta Biol. Acad. Sci. Hung.*, **19,** 517—518.
14. Puppi, A., Tigyi, A. and Szalay, L. (1971) Correlation between the redox potential of the medium and the two mean types of acetylcholine effect. *C. R. Bulg. Sci.*, **24,** 519—522.
15. Shapiro, H. M. (1972) Redox balance in the body: an approach to quantitation. *J. Surg. Res.*, **13,** 138—152.
16. Sobrino, J. A., Del Castillo, J. (1972) Activation of the cholinergic and plate receptors by oxidizing reagents. *Internat. J. Neuroscience*, **3,** 251—258.
17. Ziegler, E. (1965) *The redox potential of the blood in vivo and in vitro.* Thomas, Springfield,
18. Zinchenko, V. P. (1972) Changes of luminescene of piridine nucleotides of muscle cells following stimulations of short duration. *Biophys. Liv. Cells (Puschino)*, **3,** 76—80.

OXIDATIVE AND REDUCTIVE CHANGES IN THE INDIRECTLY STIMULATED MUSCLES

P. Práger, A. *Puppi and M. Dely*

Central Laboratory of Animal Research, Medical University, Pécs, Hungary

In the present *in vitro* experiments the changes in redox state potential (E_0') of frog skeletal muscles were investigated following indirect stimulation, in dependence of various stimulating parameters. According to the presented results, when increasing the muscle activity the E_0' level grows parallely, which fact should be explained by the increasing metabolism of activated muscles. On the basis of the recent and our earlier observations it is concluded that the redox state and its changes play a regulatory role in the combat of muscle exhaustion.

The results of the present work serve as control for those experiments in which the dependence of excitatory processes from the actual E_0' level will be analyzed.

Biológia, 28, 1980, 114—117.

PERINATÁLIS TSH KEZELÉS HATÁSA A FELNŐTT PATKÁNY PAJZSMIRIGYÉNEK JÓDFELVÉTELÉRE

NAGY ZSUZSANNA, CSABA GYÖRGY, *JUVANCZ IRÉNEUSZ és *VARGHA PÉTER

Semmelweis Orvostudományi Egyetem, Biológiai Intézete és *Biometriai Csoportja, Budapest

Beérkezett: 1980. március 24-én

Kulcsszavak: TSH, FSH, receptorfejlődés, pajzsmirigy

Bevezetés

A hormonreceptorok dinamikus struktúrák, melyeknek az adott sejt membránjában való jelenlétét nagymértékben befolyásolja a hormon jelenléte vagy hiánya [10, 11, 14, 15]. Még inkább így van ez a perinatális időszakban, amikor is a sejtmembrán, illetve a receptorok érése megtörténik [1, 12]. Az ilyenkor — különösen az újszülöttkorban — adott nagy dózisú hormon elősegítheti a receptor megerősödését, míg a hormontól kisebb vagy nagyobb mértékben eltérő molekulák amplifikálhatják vagy deformálhatják a receptort. Az újszülöttkorban alkalmazott nagy dózisú TSH, illetve a hozzá nagyon hasonlító [2, 16, 17] gonadotrop hormonok a TSH kötődését, ill. az erre adott választ felnőtt korra csökkentik patkányban [3, 6], míg csirkében mind TSH-val, mind FSH-val amplifikációt lehet elérni [8]. Az újszülöttkori vazopresszin kezelés [7] a felnőtt patkány vazopresszinre adott reakcióját növeli, míg a hasonló szerkezetű oxitocinnal végzett megfelelő kezelés a vazopresszinre kiváltott választ fiatal korban növeli, idős korra csökkenti. A glukózaminnal történő újszülöttkori kezelés [4] a glukózra adott felnőttkori választ fokozza. Gerinctelen vizsgálati rendszerben — planárián — a neoblasztoknak adott adrenalin kezelés fokozza a kifejlett állat adrenalinra adott reakcióit [5].

Az elmondottakból nyilvánvaló, hogy *az újszülöttkori kezelés felnőtt korra megmutatkozó hatása lehet különböző, azonban egyetlen esetben sem volt közömbös.* Ennek alapján indokoltnak látszott megvizsgálni, hogy a receptor amplifikálhatósága vagy deformálthatósága mennyiben az újszülöttkor specificitása, illetve megtörténhet-e egy későbbi perinatális időpontban

Anyag és módszer

Kísérleteink kapcsán 3—6—12 és 30 napos Wistar-R/A (LATI, Gödöllő) patkányokat kezeltünk tireotrop hormonnal (TSH; Ambinon-Organon-Oss) 1 NE/állat mennyiségben szubkután. A kontroll állatok fiziológiás konyhasó-

Az Egészségügyi Minisztérium Tudományos Tanácsa által támogatott munka: 1-01-0302-02-1/Cs.

oldatot kaptak. 60 napos korban az állatok egyes csoportjai 10 μCi/100 g testsúly $Na^{125}I$-t kaptak (spec. akt. 10×10^6 mCi/g) ip., majd 10 perc mulva a pajzsmirigyeket kiemeltük.

Más csoportokban 0,1 NE/állat TSH-t adtunk, és 2 óra múlva kaptak 10 μCi/állat $Na^{125}I$-t, mindkét kezelés ip., majd 10 perc múlva emeltük ki a pajzsmirigyeket. A mirigyeket súlyállandóságig szárítottuk, mértük, majd salétromsavban roncsoltuk, végül a szokásos előkészítés után Packard Tricarb készülékben mértük az aktivitást. Az 1 perces impulzusszámokat 1 mg pajzsmirigyszövetre visszaszámoltuk és az eredményeket statisztikailag értékeltük. Egy-egy csoport állatszáma 8—12 volt, összesen 200 állaton végeztünk megfigyeléseket.

Eredmények és diszkusszió

Olyan esetben, amikor a vizsgálati objektum annyira érzékeny a belső és külső miliő változásaira, mint a pajzsmirigy és különösen akkor, ha annak jódfelvételét vizsgáljuk, természetszerűleg számítanunk kell arra, hogy nagyon nagy az interindividuális különbség. Ha ehhez még hozzájön, hogy az újszülöttkori hormonkezelés egyesekben amplifikált, másokban pedig deformációt hozott létre, akkor helyesebbnek látszott ha a csoporton belüli variábilitást is szemügyre vesszük. Az *I. táblázat*ban ezeket a varianciákat mutatjuk be, a kezelt csoportokat a konyhasóval kezelt kontrollokkal szembeállítva. Mint látható, az összes, a születéshez közel eső csoportban, a kezeltek varianciája nagyobb, mint a kontrolloké. A 30. napon kezelt csoport azonban nem különbözik a kontrollokétól.

I. táblázat

Fészekaljon belüli varianciák, millió (cpm)[2]

Table I. Variance within litter in million (cpm)[2].

Kezelés módja		Kezelési napok			
Kiindulás	60. nap	3	6	12	30
Konyhasó	—	0,57	0,88	0,10	0,79 0,47 1,72
TSH	—	0,80	1,19	0,44	0,87
Konyhasó	TSH	1,29	1,65 0,35 1,58	0,35	1,33 2,70
TSH	TSH	1,26	2,08	0,46	0,43

A varianciák növekedése alátámasztja azt a feltételezést, hogy a születést követően még egy ideig a TSH-kezeléssel maradandó hatást érhetünk el.

Ez a varianciák összehasonlítása alapján 2—4 hétre tehető. Az átlag *(II. táblázat)* növekedését jelen kísérletben csak a 3 napos korban kezelteknél tapasztaltuk, a későbbiekben lényegében változatlan. Ez arra utalhat, hogy a későbbi kezelés, ha általában emeli is a pajzsmirigy felnőttkorban mért jódfelvételét, csak olyan csekély mértékben, hogy az ellentétes tendenciák és a fent említett bizonytalansági tényezők ezt könnyen elfedhetik.

II. táblázat

Fészekaljak átlagértékei cpm

Table 2. Mean values of litters in cpm

Kezelés módja		Kezelési napok			
Kiindulás	60. nap	3	6	12	30
Konyhasó	—	2400	3604	1609	2964 2573 5081
TSH	—	3850	3285 3860	1702	2979
Konyhasó	TSH	4160	4286 2140 4281	2111	6549 5453
TSH	TSH	4800	3976	2116	2389

A fenti okok miatt a kísérlet jelenlegi fázisában a formális statisztikai analízis — pl. omnibusz próba, $z = \frac{\ln F}{2}$ — elvégzése félrevezető volna.

A kapott eredmények tehát — kellő óvatossággal fogalmazva — arra mutatnak, hogy helytelen volna az ezen korai életszakaszban adott masszív dózis késői hatását jelentéktelennek tekinteni. Ez pedig kellő összhangban van az irodalmi adatokkal, vagyis, hogy az első négy hétben adott kezelés hatása felnőtt korban is érvényesülhet.

Összefoglalás

Patkányokat 3, 6 és 12 nappal a születés után nagy dózisú tireotrop hormonnal (TSH) kezelve a felnőttkorban regisztrált jódfelvételi variábilitás egy újabb TSH kezelésre, vagy anélkül, nagyobb volt, mint ott, ahol a kezelést 30 nappal a születés után végeztük. Ez arra utal, hogy a hormonreceptorokat nemcsak az újszülöttkori azonos, vagy kis mértékben eltérő hormonkezelés befolyásolja, hanem az első két élethétben végzett kezelés is.

IRODALOM

1. Blazquez, E., Rubalcava, B., Montesano, R., Orci, L. and Unger, R. H. (1976) Development of insulin and glucagon binding and the adenylate cyclase response in liver membranes of the prenatal, postnatal and adult rat: evidence of glucagon resistance. *Endocrinology*, **98,** 1014—1023.
2. Closset, J., Maghuin-Rogister, G., Vandalem, J. L., Conmbarnous, Y. and Hennen, G. (1978) Primary structure and immunological comparison of porcine thyroid-stimulating (TSH) and follicle stimulating (FSH) hormones. *In:* Robbins, J. and Braverman, L. E. (eds.): *Thyroid research.* Excerpta Medica, Elsevier, Amsterdam.
3. Csaba, G. and Nagy, S. U. (1976) Plasticity of hormone receptors and possibility of their deformation in neonatal age. *Experientia*, **32,** 651—652.
4. Csaba, G. and Dobozy, O. (1977) The sensitivity of sugar receptors — analysis in adult animals of influences exerted at neonatal age. *Endokrinologie*, **69,** 221—232.
5. Csaba, G. and Kádár, M. (1978) Possibility of the amplification of hormone receptors in early period of differentiation. The invertebrate model. *Differentiation*, **10,** 61—64.
6. Csaba, G. and Nagy, S. U. (1978) The binding of ^{125}I-TSH to thyroid cell receptors previously deformed (in neonatal age) by gonadotropin treatment. *Biol. Neonate*, **34,** 270—277.
7. Csaba, G., Rónai, A., László, V., Darvas, Zs. and Berzétei, I. (1980) Amplification of hormone receptors by neonatal oxytocin and vasopressin treatment. *Horm. Metab. Res.*, **12,** 28—31.
8. Csaba, G., Dobozy, O. and Kaizer, G. (1979) Study of FSH-TSH functional overlap by cockerel testicle test. *Horm. Metab. Res.*, **11,** 689—692.
9. Döhler, K. D. and Gärtner, A. (1977) Activation of anterior pituitary, thyroid and adrenal gland in rats after disturbance stress. *Acta Endocrin.*, **86,** 489—497.
10. Freychet, T. (1975) Recent studies on insulin-receptor interaction. *Israel J. Med. Sci.*, **11,** 679—686.
11. Freychet, T. (1976) Interaction of polypeptide hormones with cell membrane specific receptors: studies with insulin and glucagon. *Diabetologia*, **12,** 83—100.
12. Hubbert, W. T. and Miller, W. J. (1974) Immunogenetic ontogeny and cellular membrane function: a rewiev. *J. Cell. Physiol.*, **84,** 429—444.
13. Kaulich, L., Hefco, P. and Read, I. B. (1974) The effects of acute stress on the secretion on LH, FSH, prolactin and GH in normal male rat with comments on the statistical evaluation. *Neuroendocrinology*, **16,** 293—311.
14. Livingstone, J. N., Purvis, D. J. and Lackwood, G. H. (1978) Insulin dependent regulation of the insulin sensitivity of adypocites. *Nature*, **273,** 394—396.
15. Manni, A., Chambers, M. J. and Pearson, O. H. (1978) Prolactin induces its own receptors in rat liver, *Endocrinology*, **103,** 2568—2570.
16. Pierce, J. G., Faith, M. E., Giudice, L. C. and Reeve, J. R. (1975) Structure and structure-function relationship in glycoprotein hormones. *In: Polypeptide hormones. Molecular and cellular aspects.* Ciba Found. Symp. Vol. **41,** Elsevier, Amsterdam, pp. 225—243.
17. Ward, P. M. (1974) Correlation of hormonal structure with hormonal function in mammalian tissues. *In:* Burdette, X. J. (ed.): *Invertebrate Endocrinology and Hormonal Heterophylly.* Springer, Berlin, pp. 320—327.

EFFECT OF PERINATAL TSH-TREATMENT ON THYROIDIC IODINE UPTAKE IN THE ADULT RAT

Susanna U. Nagy, G. Csaba, I. Juvancz and P. Vargha**

Department of Biology, and *Biometrical and Clinico-epidemiological Unit
Semmelweis University of Medicine, Budapest,
Hungary

Rats treated with a large dose of thyrotropic hormone (TSH) 3, 6 and 12 days after birth showed in adult a greater variability in thyroidic iodine uptake both with and without re-exposure to TSH than those similarly treated when at age of 30 days. It appears that hormone receptor development is influenced not only by neonatal exposure to identical or slightly different hormone, but also by the application of the hormones during the first two weeks of age.

Biológia, 28, 1980. 118—122.

KÖNYVISMERTETÉS

BALÁZS, A.: Control of cell proliferation by endogenous inhibitors. Akadémiai Kiadó, Budapest, 1979. 271 oldal

A sejtproliferáció endogén szabályozó anyagainak, regulátorainak és modulátorainak kutatása az utóbbi 10—15 évben, a szeparációs technikák és az anyagszerkezet felderítésére alkalmas módszerek teljesítő képessége növekedésének eredményeképpen, új lendületet kapott és jelentős eredményeket ért el. Kísérleti megfigyelések egész sora utal arra, hogy a sejtproliferáció szabályozása serkentő és gátló hatást közvetítő mediátorok kölcsönhatása révén valósul meg. Különösen nagy érdeklődés kíséri az endogén inhibitorokat, mindenekelőtt ezek szövet-, illetve sejtvonal-specifikus hatásúnak tűnő változatait, melyek az irodalomban „chalon" néven váltak ismertté. A fokozott érdeklődés hátterében azok a közlemények húzódnak meg, amelyek a szóbanforgó endogén inhibitorok tumorsejt populációk proliferációját is gátló, *in vitro* és *in vivo* körülmények között egyaránt megfigyelt hatásairól számoltak be. Az érdeklődés izgalommá fokozódott, amikor 1977—1978-ban RYTÖMAA és munkatársai beszámoltak megfigyeléseikről, amely szerint a granuloid inhibitor egy tisztított preparátuma leukémiás betegeken is hatékonynak bizonyult. Ezzel az endogén inhibitorok, mint szelektív hatású, természetes anyagok gyakorlati felhasználása a rosszindulatú daganatok kezelésére elvileg elérhető célként jelent meg a kutatók szeme előtt.

BALÁZS ANDRÁS, BLAZSEK ISTVÁN közreműködésével írott monográfiája széleskörű, alapos áttekintést nyújt a proliferáció endogén inhibitorai kutatásában eddig elért eredményekről. E tárgykörből, ilyen részletes és ilyen egységes szempontok szerint megírt összefoglaló munka, eddig sem a hazai, sem a külföldi könyvpiacon nem jelent meg.

A monográfia nyolc fejezetre tagolódik. Az I. fejezet általános áttekintést nyújt a sejtosztódás szabályozásáról, valamint a mediátor szerepet játszó endogén anyagok, elsősorban inhibitorok definíciójáról és osztályozásáról. A II. fejezet a sejtpopulációk, proliferációjuk jellegzetességei alapján történő csoportosításával és a sejtciklus leírásával foglalkozik. A III. fejezetben az endogén inhibitorok és a proliferáció gátlásának természetére vonatkozó régi és újabbkeletű teóriák ismertetésére kerül sor. A IV. fejezet az endogén inhibitorok izolálására és biológiai hatásaik mérésére alkalmazott módszerek kritikai ismertetését tartalmazza. Az V. fejezet a proliferáció sejtszintű szabályozásának mechanizmusaival, a VI. fejezet pedig a kontroll mechanizmus szubcelluláris, illetve molekuláris szinten megvalósuló formáival foglalkozik. A VII. fejezet a tumorsejtek kinetikájáról, az endogén inhibitoroknak a karcinogenezisben játszott esetleges szerepéről, valamint kemoterápiás felhasználásuk potenciális lehetőségeiről ad áttekintést. A VIII. fejezetben azoknak az endogén inhibitoroknak ismertetésére kerül sor, melyeket eddig, különböző szöveti forrásokból — durva kivonatok vagy azok többé-kevésbé tisztított frakcióiként — előállítottak. A monográfiát egy 14 oldal terjedelmű táblázatos összefoglalás zárja le, melyben a különböző laboratóriumokban eddig előállított endogén inhibitorok, illetve az ezeket tartalmazó szöveti frakciók biológiai, kémiai és fizikokémiai tulajdonságainak, sokszor számszerűen kifejtett adatai találhatók. A monográfia értékéhez nem kis részben járul hozzá a közel 900 közlemény címét és adatait magábafoglaló bibliográfia. A szöveges részben foglaltakat 86 ábra és 6 táblázat dokumentálja.

E könyvet, a sejtbiológiai tárgykörű hazai kiadványok sorában előkelő hely illeti meg. Lapjait egyformán haszonnal forgathatják úgy a tárgy iránt csak általánosságban érdeklődő,

mint e tárgykörben jártas vagy éppen aktívan dolgozó szakemberek. Gazdag bibliográfiája révén a monográfia forrásmunkaként is megállja helyét. Az ízléses kivitel és kifogástalan nyomdatechnika az Akadémiai Kiadó munkáját dicséri.

Menyhárt János

Filozófia, ember, szaktudományok. Szerkesztette VERECZKEI LAJOS és JÓRI JÁNOS, Akadémiai Kiadó, Budapest, 1979. 423 oldal, ára 113 Ft.

Az ember, mióta a világon van, foglalkozik saját magával és objektív szempontokat figyelembe véve, vagy sok esetben azokat mellőzve és túllépve teremti meg a maga emberképét. Ez a kép az utóbbi évszázadokban, de különösen az utóbbi évtizedekben sokat vesztett fenségéből, mert az állatvilág tevékenységéről szerzett ismeretek éppúgy, mint a biológiai folyamatok univerzalitásáról tett megállapítások nagymértékben rombolták azt a gátat, melyet az ember saját maga és az állatvilág közé épített.

Az emberkép korábbi kialakításában a biológia és filozófia egyaránt közreműködött, azonban e két tudományág által alkotott kép tartalmában és meghatározásában nem teljesen fedte egymást. Éppen ezért nagyon lényeges, hogy a marxista filozófia emberkoncepciója a korszerű biológia emberképére támaszkodjon, ugyanakkor a biológusnak is tudomásul kell vennie a filozófusok igényét, ill. megállapításaikat meg kell próbálni alkalmazni a biológiai folyamatokra. Ezt a célt szem előtt tartva jött létre Pécsett egy konferencia biológus szakemberek és filozófusok részvételével. 18 előadás hangzott el, melyet vita követett 25 hozzászólással. Mindezt, valamint egy, a témakörből tartott rádióbeszélgetést tartalmaz a kötet.

A könyv különleges érdeme prioritása. Számos olyan kötet jelent meg már hazánkban, mely biológusok vagy filozófusok gondolatait tartalmazza az emberről, de tudomásom szerint olyan még nem, amely a kettőt együtt, sőt a vita végén néhol konfrontálva is a véleményeket. Másik nagy eredmény, hogy a kétféle tudomány képviselőinek jelenléte éppúgy, mint a választott célkitűzés mintegy arra kényszerítette az előadókat, hogy nézeteiket a másik fél nézeteihez — ismereteihez — adaptálja, elfogadva vagy támogatva azokat. Így a vitától el tekintve maga az előadások anyaga is számos polémiát tartalmaz.

A könyvben a normális és kóros (pszichotikus vagy bűnöző) személyiség egyaránt szerepel és megvitatásra kerül, éppúgy, mint a biológiai vagy kulturális evolúció kérdése. Ezen túlmenően még a jövőre való kitekintés is megtörténik.

A könyvet biológusok és alkalmazott biológusok (orvosok, állatorvosok stb.) valamint filozófusok haszonnal *kell*, hogy forgassák.

Csaba György

Klasszikus és molekuláris genetika. Szerkesztette: OROSZ LÁSZLÓ. Akadémiai Kiadó, Budapest, Ára: 97,— Ft

Régóta fennálló igényt próbál ez a könyv kielégíteni, Magyarországon ugyanis tudományos igényű, a molekuláris genetika eredményeit is részletesen tartalmazó kötet még nem jelent meg. Ebből a szempontból tehát örömmel üdvözölhetjük ezt a munkát. Felépítése és tartalma azonban az olvasóban némi csalódottság érzetét kelti. Nem egészen logikusan követik ugyanis egymást az egyes fejezetek. Ha az ember azt olvassa egy ilyen című könyvben, hogy „az eukariota genom molekuláris szerveződése" akkor joggal elvárhatná „a prokariota genom mulekuláris szerveződése" címet is, és bár az ehhez tartozó tartalom sok helyen szerepel, nem úgy, ahogyan a rendszerezés ezt megkívánná. Ugyanígy, ha látunk egy olyan címet, hogy „a növényi kromoszómák heterokromatikus festése" akkor várható volna valami hasonló az állati kromoszómával kapcsolatban is. Olyan érzése támad az olvasónak, hogy minden szerepel a könyvben, amihez megfelelő szerzőt lehetett találni, és elsősorban a szerzők ismeretanyaga, ill. bizonyos genetikai objektumhoz való tudományos elkötelezettsége szabja meg a tartalmat inkább, mint a kötet címe. Jellemző erre az egyik fejezet címe is; „Példa az egyedfejlődés determinációjára". A könyv címe alapján az egyedfejlődés genetikai szabályozottsága volna várható, ezzel szemben itt kifejezetten a *Drosophyla* esetét veszik alapul és azt ismertetik.

A könyvet kevés kivétellel viszonylag fiatalok írták. Ez óriási előny, a fiatalság lelkesedésével szinte mindent belevettek, ami a korszerű genetikai ismeretekből tudnivaló, ugyanakkor hátrány is, mert didaktikailag kevésbé kidolgozott a könyv. Ehhez járul, hogy a megírás módja egyenetlen — ez természetesen a sok-szerzőségből adódik — érthetőbb és nehezebb feje-

zetek váltogatják egymást. Az egyenetlenség abban is megmutatkozik, hogy vannak fejezetek, amelyek igen magas tudományos igényűek, jelentős kísérleteket ismertetnek és matematikai levezetések sorozatát közlik, mások pedig a hazai genetikai tanácsadók címét ismertetik, ami világosan mutatja, hogy a könyv célja nem teljesen tisztázott.

Hibának tartható, hogy a könyv — bár 1980-ban jelent meg — nem az SI rendszert használja, sőt nem is utal rá.

Talán érthető, hogy a recenzens először az általa hibásnak tartott jelenségekre hívja fel a figyelmet, hiszen a könyv címe alapján felkeltett várakozása nem elégült ki. Mégis meg kell mondani, hogy a hibák a könyv felépítésében és tartalmának összességében mutatkoznak meg, az egyes fejezetek tartalma túlnyomórészt igen korszerű és alapos munka, melyet rendkívül hasznosnak és értékesnek tartok. Minden genetikával közvetlenül, vagy határterületen foglalkozó haszonnal forgathatja a kötetet. A kiadó szép tipográfiával készítette el a munkát, azonban a fényképek prezentációjához legalább a megfelelő oldalakon jobb minőségű papír alkalmazása helyesebb lett volna.

Csaba György

ELŐDI PÁL: Biokémia. Akadémiai Kiadó, Budapest, 1980. 935. old. 181,— Ft.

Biológusok számára alapvető jelentőségűek a biokémiai ismeretek; nélkülük érthetetlenek lennének az életfolyamatok, a kísérleti eredmények nem lehetnének értelmezhetőek a komplex folyamatok részeként. Orvosok számára pedig bizonyos vegyületek hatásmechanizmusának ismerete, enzimopátiák, anyagcserezavarok alapjainak biokémiája fontos segítséget nyújthat az eredményesebb tevékenység folytatásához.

1965 óta, amikoris az utolsó magyar biokémiai kézikönyv megjelent, a biokémia, a molekuláris biológia szédületes eredmények tömkelegét produkálta. Égető szükség volt egy magyar nyelvű kézikönyvre, mely összefoglalja a modern biokémia jelenlegi eredményeit. (A „jelenlegi" szó eléggé megkérdőjelezhető, mivel a könyv írása 1976-ban elkezdődött, s négy év alatt igen sok új, igen jelentős tény napvilágra került.)

Ezen okokból kifolyólag felfokozott érdeklődéssel, s örömmel veszi kézbe az ember a tekintélyes méretű könyvet. Kíváncsian vizsgálja, eléri e a szerző az előszóban említett, nem is kis célját, nevezetesen annak megvilágítását, hogy a biológiai jelenségek a biomolekulák tulajdonságainak ismeretében kielégítően értelmezhetőek; a magasabbrendű komplexek az előre jellemzően maximális ökonómiával és optimális anyag és energiafelhasználással működnek; s ezen feladatokra a biomolekulák felépítése lehetőséget nyújt.

Érzésem szerint ezt a kitűzött célt a szerző szinte maradéktalanul el is éri. Jó és tömör összefoglalást ad a biomolekulák jellegzetességeiről, s szintén tömören jellemzi az élő szervezeteket felépítő, alapvető anyagok, a fehérjék, a szénhidrátok, lipidek, nukleotidok és polinukleotidok szerkezeti és funkcionális jellegzetességeit. A konkrét anyagcserefolyamatok tárgyalása előtt ezen folyamatok mechanizmusára jellemző kinetikai és katalitikus jelenségeket tárgyalja meg. A biokatalízist tárgyaló fejezet véleményem szerint kiemelkedően jó összefoglalása ennek az igen nagy jelentőségű területnek. A különböző anyagcsere-folyamatok tárgyalása után a molekuláris genetikát, az információs makromolekulák keletkezését, replikációját, valamint a transzkripció és transzláció mechanizmusát, problémáit tárgyalja a szerző, szintén tömören összefoglalva, világosan érthető formában, s a felsorolt példák jól támasztják alá a mondanivalókat. A könyv utolsó részében néhány biológiai folyamat, a szabályozás, biológiai transzport, ingerlékenység, és mozgás molekuláris mechanizmusát tárgyalja. Itt mintegy az előző fejezetek során megismert működési mechanizmusok, elvek konkrét példáit értheti meg az olvasó.

Nagyon jónak tartom a fejezetek végén levő példák megválasztását. Ha valaki veszi a fáradságot, s olyan mélységben veszi át a fejezetek anyagát, hogy ezeket a példákat képes, megoldani, biztos lehet abban, hogy az alapvető logikai összefüggéseket elveket pontosan megértette. Szintén célszerű, a könnyebb tájékozódást segítik elő az oldalak felső részén található „alcímek", melyek egy hosszabb fejezetben is gyorsan a keresett tényre vezetik az olvasót A tárgymutatóról viszont korántsem mondható el ez a könnyebb tájékozódást szolgáló dícséret. Például a lektin címszónál említett 221. oldalon szó sem esik a lektinekről. S ha már a negatívumokról beszélünk, meg kell említeni pl. a 799. oldalon levő 24,4 táblázatot is, ahol a hipofízis első és hátsó lebenye fel van cserélve. Az oxitocin szerepe sem teljesen bizonyított a laktációban, mint ahogy azt a 797. oldalon említi.

Első látásra furcsának tűnik, hogy a könyvet két különböző minőségű papírra nyomták. Ennek valószínű oka abban lehet, hogy az elektronmikroszkópos képek, melyek igen jól szolgálják a mondanivaló illusztrálását, csak a jobb minőségű, merített papíron érvényesülnek.

Természetesen egy kézikönyv nem térhet ki minden apró részletre, de azért egy pár fogalmat én személy szerint szívesen láttam volna még a könyvben. Például a fibronektinek meg sincsenek említve, pedig a utóbbi időkben igen intenzíven kutatott anyagok, melyeknek lényeges szerepük mutatkozik a malignitásban, és több más celluláris jelenségben. Szintén bővebb információt szerettem volna az intracitoplazmatikus felismerési folyamatokról kapni, a cukorszignálok biokémiai jelentőségéről, szintéziséről olvasni.

Az említett apróbb hiányosságok (melyek véleményem szerint kis figyelemmel elkerülhetők lettek volna) ellenére a biológiai és más határtudományok művelői, valamint minden érdeklődő egy igen használható biokémia könyvet kapott kézhez. Reméljük, hasonló színvonalú biokémiai műre nem kell további tizenöt évet várnunk.

Kovács Péter

ÁKOS KÁROLY és ÁKOS KÁROLYNÉ: A fáradás psychochronographiai vizsgálata. Akadémiai Kiadó, Budapest, 1979.

Az emberi teljesítmény megközelítése a fáradás sokténye zős szemlélete alapján nem újkeletű törekvés. Az egész személyiséget érintő kérdésként tárgyalni azonban és a fáradást egyetlen kvantitatív pszichofizikai jelenség mérésével ennek érdekében alkalmazni merőben új, korszerű és egyéni vállalkozás. E feladatot kísérli meg hasznosan Ákos Károly és Ákos Károlyné 1600 személyen végzett több, mint másfél millió mérés adatának feldolgozása alapján. Az Akadémiai Kiadó gondozásában megjelent 458 oldalas könyvükben korszerű módszerekkel, sokoldalúan foglalkoznak a fáradás psychochronographiai vizsgálatának alapelvével, módszereivel, ezek alkalmazásával egészséges és kóros személyeknél, ~ valamint az eredmények értékelésével.

Feltételezésük szerint a Fechner óta elfogadott nézet, ~ hogy a pszichofizikai küszöbértékek spontán véletlenszerű és tovább nem kutatható jelleggel variabilisek — elvethető tudományos előítélet. Ennek bizonyításához az ún. kritikus villogási frekvenciák (CFF) egyénenkénti variációit vizsgálták elemi és sorozat-effektusokként. Lényegében azt az észlelési küszöböt vizsgálták meg az észlelés egyik formájának átmenete az észlelés másik formájába. 50 elemi villogási effektus sorozatos felvételét tekintik terhelésnek, mely fáradásként nyilvánul meg a psychochronogrammon (PCG). Hangsúlyozzák, hogy jelentős az egyéni, de méginkább az egyének közötti PCG-variabilitás. Az egyéni variációk jellemzik az egyén személyes működési sávját, megállapításuk szerint a 10 c/s és 50 c/s közötti tartományban.

A bemérést 17—34, 35—49 és 50 év feletti korcsoportokban, vegyes, valamint kórházi homogén betegcsoportokon végezték. A PCG átlagokat (Tc) nagyon jellemzőnek és megbízhatónak találták. A szabályszerűségek karakterisztikusak és a 10 legalacsonyabb érték átlaga a PCG fáradás markáns jellemzője.

Vizsgálataik szerint a Tc férfiaknál nagyobb, mint nőknél, de az életkor növekedésével az átlagok csökkennek, miként 35 év felett a nemek közötti különbségek is. Kimutatták a fáradás napszaki és éves bioritmusát, mely utóbbi a 35—49 éves korcsoportban nemek szerint különbözik. Jelentősen betegségekre vonatkozó észleléseik és megállapításaik. Meglepő, hogy a neurotikus betegek nemenkénti különbségei nem alakulnak olyan következetességgel, hogy egymás statisztikai megerősítéséül szolgálhatnának. A psoriasis, neurosis és epilepszia betegségek csoportjaiban a Tc átlagok korcsoportonként ugyanazon rendszer szerint ismétlődő eltéréseket mutatnak, ugyanakkor a különböző betegségek eltérő befolyásával számolni kell.

Véleményünk szerint a Tc nagyságát meghatározóan és következetesen befolyásolja az életkor, a nem, az éves bioritmus, a betegségek típusa, valamint a PCG vizsgálat napja, napszaka (s nem utolsó sorban maga a vizsgáló műszer típusa is !). Szerzők meggyőzően tárgyalják a Tc nagyságára ható ezen kritériumok kölcsönviszonyait, megannyi sajátos és eleddig fel nem tárt bonyolító szabályszerűség megállapításával, bevezetve a PCG variációs distancia fogalmát, és ennek típusait (A és B valamint D és E variációs distanciák). Ezek segítségével tovább finomítják a vizsgálati módszer szelektivitását, mind a fáradás, mind a fáradás és pihenés elemzésében a már tárgyalt kritériumok kölcsönviszonyai szerint.

Szerzők interpretációja alapján pontosan leírhatóvá válik a terhelés és a pihenés nagysága, úgy is mint az adott terhelésre bekövetkező fáradás és mint a megfelelő számú pihenésnek megfelelő regenerációs hatással csökkentett fáradás nagysága. A fáradás- jelenség ilyen vizsgálatával nyert szabályszerűségeket bemutatják exponenciális típusú görbék segítségével is. A már említett kritériumok kölcsönviszonyai szerint értékelve megállapítják, hogy a fáradás és pihenés ellentétpárjával az agy aktuális teherbíró képességének mérésén túl, általános és speciális törvényszerűségek, szabályszerűségek elméleti és gyakorlati értelmezéséhez, alkalmazásához juthatunk közelebb.

Jelentősek és érdekesek azok az eredmények, melyek az éves bioritmus befolyását igazolják a fáradás dinamikájára, mind a tapasztalatok, mind a kutatások szempontjából. Hasonlóan a nemek közötti különbségek a hónapos fáradás-ingadozásokat illetően. Az egészségesek és betegek közötti jellemző eltérések és karakterisztikumok a betegségfeltárás, betegségmegelőzés és betegséglefolyás korszerű megismerése szempontjából ígéretesek. A fáradás és regeneráció dinamikus jellemzői az egész személyiségre vonatkozó meghatározókat jeleznek és a személyiségstruktúra megismeréséhez nyújthatnak újabb szempontokat.

Az újabb és újabb matematikai igényű és módszerű elemzések és értékelések végül is sajátos biológiai kapcsolatokat, működéseket igazolnak és jellemeznek úgy, hogy a kapcsolatviszonyok egyedül a mérési eredményekből ismerhetők meg.

Ez a rendszer ellentéte a matematikai—fizikai típusú rendszereknek, melyek funkcionális kapcsolatai a szerkezetből egyértelműen mechanikusan következnek.

A PCG-vel feltárt rendszer lényege, hogy a fáradás, a regeneráció és a biológiai kritériumok kölcsönhatásai a változások bizonyos rendszerét képezik, melyben karakterisztikumokként váltakoznak. A funkcionális változások bizonyos rendje így várható hatások benső anticipációját képezheti és ily módon a PCG felhasználhatóvá válik rejtett működési sajátosságok feltárásában. Szerzők bizonyítják, hogy az agy teherbírási kapacitása (általános működési sebessége, időbeli tartaléka stb.) különböző kritériumok befolyása alatt igen jelentősen és szabályszerűen ingadozik és e kritériumok közül a biológiaiak a legfontosabbak és leginkább meghatározóak.

Újszerűen ún. fáradtság-típusokat tárnak fel, melyeket speciális csoportokként kezelnek és e csoportok átlagain elemzik a PCG karakterisztikumok változásait. Következtetéseik szerint a PCG mintegy a mikrofáradási jelenség elemzéseként, új módszer. E módszerrel, úgy tűnik az általános fáradás minőségileg különböző jelenségeit mennyiségileg és számszerűen összevethető módon „tetten érik". A tettenérésnek pedig egyértelmű célja, hogy a fáradás jobb megismerésével a regenerációt szolgálhassuk, és nem utolsó sorban megkísérelhetjük leírni objektív módon az egyén szubjektív fáradását.

A könyv tartalmi eredményeit a bonyolult szerkesztés, a végtelen, igazoló ábrák sokasága, és a számok és táblázatok tengere, valamint az újabb és újabb aspektusból megismételt elemzések sem csökkentik, de elmélyedt olvasásában és tanulmányozásában feltétlenül segítheti az olvasót saját psychochronogrammjának ismerete.

Iván László

MAGYAR TUDOMÁNYOS AKADÉMIA KÖNYVTÁRA

A kiadásért felel az Akadémiai Kiadó igazgatója
Műszaki szerkesztő: Marton Andor
A kézirat nyomdába érkezett: 1980. X. 7. — Terjedelem: 10,85 (A/5) ív
81.8857 Akadémiai Nyomda, Budapest — Felelős vezető: Bernát György

A legkorszerűbb tudomány legkorszerűbb lexikona
a négykötetes

BIOLÓGIAI LEXIKON

mely a biológia hagyományos ágai mellett olyan diszciplínákat is felölel, mint például

az űrbiológia
a biometria
a genetika
a molekuláris biológia
a biokibernetika
a biokémia

Főszerkesztő STRAUB F. BRUNÓ

Akadémiai Kiadó, Budapest

TARTALOM

Balázs A.: A sejtszaporodás molekuláris szabályozása 3
T. Szabó M.: Limfokinek (biokémiai áttekintés) 53
Paksy A.: Radioimmuno-eljárások mérési megbízhatóságának statisztikai elemzése 77
Józsa L., Vándor E., Réffy A., Demel Zs., Szilágyi I. és Szabó Gy. J.: Az emberi vázizomzat regenerációja 96
Práger P., Puppi A. és Dely M.: Oxidációs és redukciós változások indirekt ingerelt békaizmok elektromos ingerlése során 107
Nagy Zs., Csaba Gy., Juvancz I. és Vargha P.: Perinatális TSH kezelés hatása a felnőtt patkány pajzsmirigyének jódfelvételére. 114

Könyvismertetés

Balázs, A.: Control of cell proliferation by endogenous inhibitors *(Menyhárt János)* 118
Vereczkei J. és Jóri J. (szerk.): Filozófia, ember, szaktudományok *(Csaba György)*..... 119
Orosz L. (szerk.): Klasszikus és molekuláris genetika *(Csaba György)* 119
Előd i P.: Biokémia *(Kovács Péter)* 120
Ákos K. és Ákos Károlyné: A fáradás psychochronographiai vizsgálata *(Iván László)* 121

Ára: 26 Ft
Előfizetés egy évre: 52 Ft

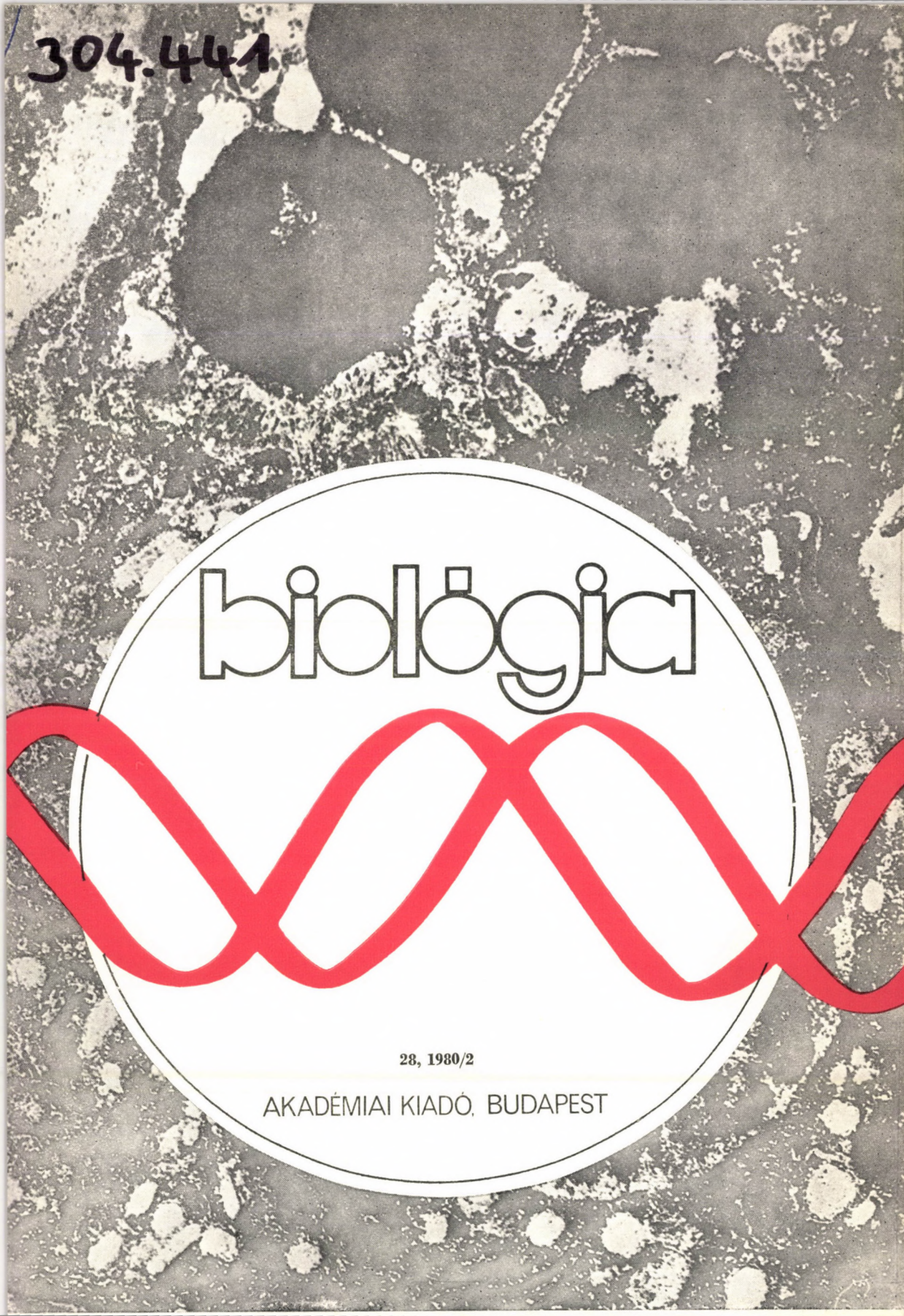
INDEX: 26.073
ISSN: 0133--3844

INDEX

BIOLÓGIA, Budapest
28 (1), 1980

BALÁZS, A.: Molecular Control of Cell Proliferation. A Review. 3
T. SZABÓ, M.: Lymphokines. A Biochemical View 53
PAKSY, A.: Statistical Appraisal of the Measuremental Reliability in Radioimmuno assay 77
JÓZSA, L., VÁNDOR, E., RÁFFY, A., DEMEL, S., SZILÁGYI, I. and SZABÓ, Gy. J.: Regeneration of the Human Skeletal Muscles 96
PRÁGER, P., PUPPI, A. and DELY, M.: Oxidative and Reductive Changes in the Indirectly Stimulated Muscles 107
U. NAGY, SUSANNA, CSABA, G., JUVANCZ, I. and VARGHA, P.: Effect of Perinatal TSH-Treatment on Thyroidic Iodine Uptake in the Adult Rat 114

304.441



biológia

28, 1980/2

AKADÉMIAI KIADÓ, BUDAPEST

SZERZŐINK SZÍVES FIGYELMÉBE

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

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

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

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

BIOLÓGIA Szerkesztősége
Dobozy Ottó technikai szerkesztő
Budapest VIII., Nagyvárad tér 4.
Levélcím: 1445 Budapest, Pf. 370

A dolgozatok fejléce tartalmazza a címet, a szerző(k) teljes nevét, az intézet és a város megnevezését, valamint a kulcsszavakat. A lapban megjelenő dolgozatokat a legfontosabb külföldi *referáló folyóiratok* angol nyelvű összefoglalójuk, illetve címük alapján *ismertetik.* Ezért célszerű a külön angol fordítás céljára készült összefoglalók szövegének informatív, szabatos megfogalmazása. A dolgozat végén jelöljék meg a *szerző nevét* és munkahelyének pontos *címét* (irányítószámmal). A kéziratok elkészítéséhez a Szerkesztőség — előzetes kérésre — *Útmutatót* bocsát a szerzők rendelkezésére. Folyóiratunk egységes technikai kivitelezése érdekében *kizárólag az Útmutató figyelembevételével készült munkákat fogadhatunk el.*

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

Terjeszti a Magyar Posta

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

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

Előfizetési díj egy évre: 52 Ft

1 szám ára: 26 Ft

Index szám: 26 073

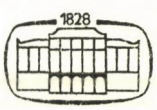
Külföldön terjeszti a KULTÚRA Külkereskedelmi Vállalat,
H-1389 Budapest, Pf. 149.

BIOLÓGIA

ELMÉLETI ÉS KÍSÉRLETI BIOLÓGIAI FOLYÓIRAT

Szerkesztő:
CSABA GYÖRGY

A szerkesztő bizottság tagjai:
BALÁZS ANDRÁS
CSÁNYI VILMOS
DOBOZY OTTÓ
(technikai szerkesztő)
GUBA FERENC
KISZELY GYÖRGY
VIDA GÁBOR



AKADÉMIAI KIADÓ, BUDAPEST

MAGYAR
TUDOMÁNYOS AKADÉMIA
KÖNYVTÁRA

Biológia, 28, 1980, 127—197

AZ ÉLETJÁTÉK
(fizikus szemmel az evolúcióról)

MARX GYÖRGY

Eötvös Loránd Tudományegyetem Atomfizikai Tanszéke, Budapest

Beérkezett: 1980. május 21-én

Kulcsszavak: evolúció, második főtétel, szimulációs játék, természetes kiválasztódás, hiperciklus

A játszótársam, mondd, akarsz-e lenni,
akarsz-e mindig, mindig játszani?
Akarsz-e együtt a sötétbe menni,
gyermekszívvel fontosnak látszani . . .
Akarsz-e játszani mindent, mi élet,
havas telet és hosszú-hosszú őszt,
lehet-e némán téát inni véled,
rubin téát és sápadt páragőzt?
Akarsz-e élni, élni mindörökkön,
játékban élni, mely valóra vált?
Virágok közt feküdni lenn a földön,
S akarsz, akarsz-e játszani halált?

(KOSZTOLÁNYI)

1A. Az idő iránya

Az anyag feltárt mozgástörvényei (legalább tíz tizedesjegyre) szimmetrikusak az időben. Pl. az ingamozgás

$$ml^2 \frac{d^2\varphi}{dt^2} = -mg \sin \varphi$$

mozgásegyenletének alakja nem változik meg, ha t helyébe $-t$ változót helyettesítünk, ezért $\varphi(t)$ mellett $\varphi(-t)$ is megoldás. Az inga lendülését a pillanatnyi kilengés határozza meg, mégpedig oly módon, hogy az inga ugyanúgy lendül jobbra, mint balra. Két golyó ütközése, két hullám interferenciája is megfordítható az időben. Ha egy pillanatban ismerjük a kezdőfeltételeket, és ha minden pillanatban tudott a környezet befolyását leíró peremfeltétel is, akkor a későbbi és korábbi viselkedés egyaránt kiszámítható. A mozgástörvény nem tünteti ki a jövőt a múlthoz képest.

Az élettelen tárgyak és élőlények egyaránt atomokból tevődnek össze. Bármelyik atom, minden egyes elektron mozgását meghatározza annak pillanatnyi állapota és pillanatnyi környezete. És ez a mozgás időben megfordítható. Világunkban mégis határozott időirányt tapasztalunk. Megkopnak a piramisok, elporladnak a könyvek, a hegyeket tengerbe hordják a folyóvizek. BOLTZMANN magyarázta meg száz esztendővel ezelőtt, hogy nagyon sok részecskéből összetett anyagtömbökben önként fokozódik a rendetlenség.

A kemény tárgyak világa a szétesés, a teljes molekuláris káosz felé halad. Ezt fejezi ki a termodinamika Második Főtétele.

A távoli Angliában ugyanebben az időben fogalmazta meg DARWIN az evolúció törvényét. Ez szintén kitünteti a múltat a jövőhöz képest, de más módon. Az élővilágban fokozódik az organizáció: az élőlények szervezete mind jobban illeszkedik a környezethez, ezért egyre komplexebbé válik.

A Második Főtétel BOLTZMANN-féle értelmezését és a biológiai evolúció darwini törvényét az új gimnáziumi tanterv szerint egyidőben tanulják gyermekeink, tanítványaink a gimnázium IV. osztályának fizika- és biológiaóráin. Ha nem döbbennek meg a két egymásbaütköző tételen, ha nem szegezik nekünk a Miért? kérdést, szégyelnünk kell magunkat. Nem neveltük őket elfogulatlan gondolkodásra, a természet egységes szemléletére.

A múlt századok tudósai készen álltak a válasszal: az élő szervezeten belül nem érvényesek a fizika törvényei. Ott valamilyen különleges hatás működik: a vis vitalis, a teremthetetlen életerő. Ma viszont, a DNS szerepének felismerése, a molekuláris biológia kibontakozása után nemcsak az nyilvánvaló, hogy az élőlény atomokból épül fel, hanem az is, hogy az életjelenségek mélyén ugyancsak az anyag egyetemes mozgástörvényei működnek. Nem hisszük, hogy az egyszerű elektron környezetének elektromos hatásaira másként reagál a jégkristályban, mint a virágban. A szétesés és fejlődés dilemmája még élesebben feszül elménknek. Ez magyarázza, ez menti, hogy a fizikusok egyre nagyobb érdeklődéssel fordulnak a biológia, különösen a biológiai evolúció kérdései felé. De — a biológusoktól kicsit eltérően — nem a teljes életet, az egyetlen földi Életet vizsgálják, nem azt írják le és akarják megismerni. (Az talán túlságosan bonyolult egyszerűbb tárgyakon iskolázott szemléletünknek.) Hanem kevesebb lehetőségre, kevesebb szabadsági fokra leegyszerűsített modelleket alkotnak, azon próbálják megérteni az egyszeri igazi Élet egy-egy vonását, az elképzelhető életek közös lényegét. Az egyszeri földi Élet kimeríthetetlen fenségéhez szokott biológusok számára játéknak tűnhetnek ezek a fizikusi modellek [15, 38, 39]. Hogy mennyit érnek, azt a végső pontozás fogja eldönteni: a következtetések egybevetése a valósággal.

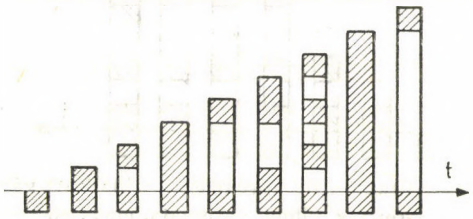
1B. A kauzalitás játék

Rakjunk sorba 6 (vagy akár több) egyforintost, fejjel (címerrel) felfelé. (Még szembeszökőbb volna olyan korongok sorozata, amelyek egyik oldala fehér, másik oldala zöld. Kezdetben a fehér koronglapok sorakoznak egymás mellett.) Ha a fej (fehér) állapotot 0, az írás (zöld) állapotot 1 jelöli, akkor a pénzsorozat egy állapotát a kettes számrendszer hatjegyű száma írja le, pl. a kezdőállapotot 000000. A forintosok állapota időegységenként változik. Hogy milyen lesz valamelyik pénz következő állapota, az a pénzérme előző állapotától és a tőle balra fekvő érme (a környezet) előző állapotától függ, mégpedig meghatározott szabály szerint:

Környezet	0	0	1	1
Állapot	0	1	0	1
Új állapot	0	1	1	0

A szabályt könnyű megjegyezni: az a kettes számrendszer összeadási szabályára emlékeztet (1 + 1 = 10 ≡ 0 mod 10). Balról jobbra induljunk végig a pénzsoron, és a megfelelő forintosok átfordításával hajtsuk végre a szabály által kívánt állapotváltoztatást. — Ha 000000 volt a kezdőállapot, a 0 + 0 = 0 szabály szerint az változatlanul „üres" marad. Tegyünk azonban a sor elejére egy forintost írással felfelé (1), és ezt minden lépésnél hagyjuk ebben az állapotban. (Állandó 1 bemenőjel, mint előírt gerjesztő peremfeltétel.) Ekkor példánk a következőképpen alakul (1. ábra):

Bemenőjel		
	1	000000
	1	100000 *idő*
	1	010000 ↓
	1	111000
	1	000100
	1	100110
	1	010101
	1	111111
		000000 . . .



1. ábra. Sejtautomata növekedése
Fig. 1. Growing cellular automata

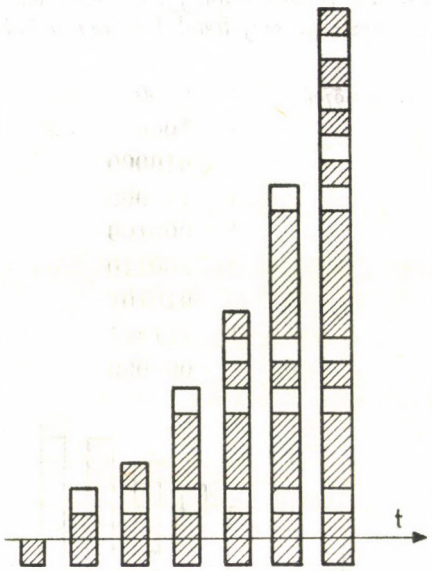
A pénzsorozaton hullám szalad végig. A hullámfront állandó maximális jel-sebességgel terjed („fénysebesség"). A változatlanul pozitív bemenőjel periodikus oszcillációt kelt a táblázatban megfogalmazott mozgástörvény szerint.

A modell módosított változatában a szemlélt és bal oldali számjegy kettes számrendszerbeli összegét írjuk be. Ilyenkor szaporodnak a számjegyek, a forintosok! Növekszik a pénzsorozat hossza.

Környezet	0	0	1	1
Állapot	0	1	0	1
Új állapot	0	1	1	10

Előző példánk most a következőképpen alakul (2. ábra):

Bemenőjel		
	1	000000
	1	100000 *idő*
	1	1010000 ↓
	1	10111000
	1	10111010100
	1	10111010111110
		1011101011111010101 ...

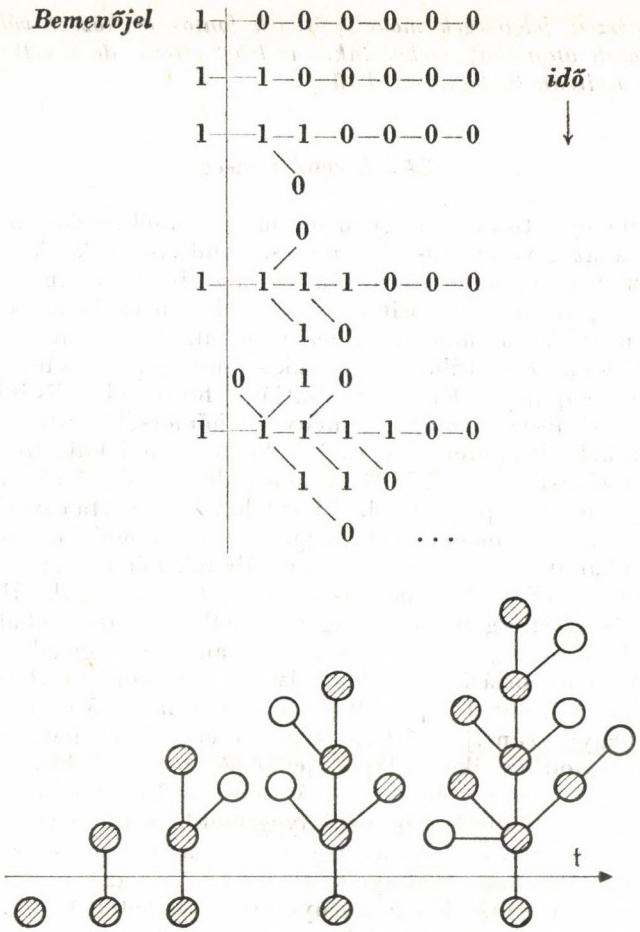


2. ábra. Sejtautomata növekedése, módosított változat
Fig. 2. Growing cellular automata, modified version

Még érdekesebb változat, amely elágazásokra vezet. Ennek mozgástörvénye

Környezet	0	0	1	1
Állapot	0	1	0	1
Új állapot	0	1	1	1
				0

A példaként tárgyalt kezdőállapot és bemenőjel most a következő mintát hozza létre (3. ábra):



3. ábra. Elágazó sejtautomata növekedése
Fig. 3. Branching of the cellular automata

[A modell LINDENMAYER ARISZTIDtől *(1968), a magyar származású matematikustól való, ő a fű növekedését, a fák elágazását kívánta vele modellezni. A játék alakulása teljesen determinisztikus. Az eredeti szabály ezenkívül időben megfordítható is.* LINDENMAYER *modellje a matematikusok által bevezetett sejtautomaták egyszerű egydimenziós példája. A sejtautomatákat, mint annyi más okos gondolatot* NEUMANN JÁNOS *(1951) vezette be. A sejtautomata egymás mellé helyezett elemek (sejtek, példánkban forintosok) egy-, két- vagy többdimenziós rendszere. Minden sejtnek végesszámú állapota van (példánkban fej vagy írás). A sejt t pillanatbeli állapota és meghatározott számú szomszédjának (példánkban egy bal oldali szomszédnak) t pillanatbeli állapota egyértelműen megállapított szabály szerint determinálja a sejt t + 1 pillanatbeli állapotát. Minden sejt állapota egyszerre változik, így a sejtautomata mozgástörvénye szerint sejtgenerációk követik egymást. A sejtautomaták az elmúlt évtizedekben a számítógépek tervezésé-*

nek és a természeti jelenségek modellezésének fontos eszközévé váltak [49]. *Az automatasejt alatt atomokat, molekulákat is lehet érteni, de a célkitűzésről árulkodó elnevezés nyilván biológiai eredetű.*]

2A. A rendetlenség

Egy kézbefogható tárgy nagyon sok molekulából tevődik össze. (A molekulák N száma az AVOGADRO-szám nagyságrendjébe esik, $N = 6 \times 10^{23}$.) Az anyagtömb érzékszerveinkkel azonosnak tapasztalt állapotát a molekulasokaság többféle elrendeződése valósíthatja meg. Hiszen érzékszerveink nem tudnak figyelemmel kísérni minden egyes molekulát, arra nincs is szükségünk. 6×10^{23} adat feldolgozása túlmegy agyunk számítókapacitásán. Szelekciós előnye számunkra csupán a túlélés szempontjából fontos globális információknak van, amilyen a sűrűség, nyomás, keménység, hőmérséklet stb.

Egy érzékelt állapotot Z számú különböző molekulaelrendezés valósít meg. Abszolút zérusfokon (−273 °C) a molekulák egyértelmű rendbe sorakoznak, tökéletes kristályt építenek fel, ekkor tehát $Z = 1$. Ha egyetlen ε_0 energiakvantumot közlünk a molekulasokasággal, ez az N molekula bármelyikének juthat, ilyen állapotban $Z = N$. Ha a kristálynak két energiakvantum a gerjesztési energiája, $Z \approx N^2$ [pontosan $Z = {}^1/_2 N(N + 1)$]. Ha a kristály makroszkopikus E energiamennyiséggel rendelkezik (azt szobahőmérsékletre melegítjük), és $E = n\varepsilon_0$ energiája sok (n számú) energiaadagot tartalmaz, akkor $Z \approx N^n$ már óriási szám lesz. [Egy szobahőmérsékletű kristályban $N \approx 6 \cdot 10^{23}$, $E \approx 7500$ J, $\varepsilon_0 \approx 10^{-20}$ J, tehát $n \approx 75 \cdot 10^{22}$, így $Z \approx N^n$, ami egy 10^{25} jegyű szám!] Ezért Z-t előszeretettel írják hatványalakban, pl. $Z = 10^S$. A termodinamikai állapot jellemzésére az S kitevőt használják. Tökéletes rend ($Z = 1$) esetén $S = 0$. A választási lehetőségek sokasodásával nő a molekuláris rendetlenség az anyagtömbben ($Z \gg 1$), így S jelentős pozitív értéket vesz fel. S tehát az anyagtömb molekuláris rendetlenségének mértéke, szaknyelven: entrópia.

Képzeljünk magunk elé egy környezettől elszigetelt testet, amely abszolút zérusfokon van, amelyben minden véletlen mozgás megszűnt. $S = 0$ tartósan; az entrópia nem változik. Ha azonban E energiát közlünk a kristály egyik molekulájával, ez a molekulák ütközése következtében fokozatosan szétszóródik az összes molekulára, a test összes szabadsági fokára. (Szétszóródás latinul: disszipáció.) Fokozódik a rendetlenség, S növekszik az időben.

A mozgásegyenlet egy molekula elemi mozgását megfordíthatóként írja le. A megfordíthatatlanság a molekulasokaság statisztikus viselkedésének a következménye. Az entrópia növekedését késleltetheti, ha az anyaghalmaz egyes részei el vannak zárva egymástól, de minden fizikai szigetelés csak közelítő és átmeneti. Az entrópia növekedése csak akkor szűnik meg, ha az anyaghalmaz elérte legrendetlenebb állapotát, ilyenkor $S = S_{max}$. Ez a termodinamikai egyensúly állapota. A környezettől elzárt anyagtömb esetén

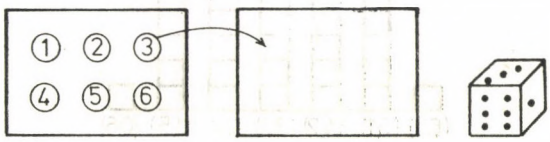
$$S_2 - S_1 = \sigma, \text{ ahol } \sigma \geq 0, \quad (\sigma = 0, \text{ csak ha } S = S_{max}).$$

A zárt molekulasokaság számára a rendetlenség fokozódása tünteti ki a későbbi állapotot (S_2 nagyobb) a korábbi állapothoz képest (S_1 kisebb).

2B. A bolhás kutya

Egy kutyát nemrég fürdetett a gazdája. A másik kutya évek óta nem takarított kutyaólból jön, hemzsegnek rajta a bolhák. A két kutya találkozik. Örömmel összedörgölőznek. A bolhák örülnek a megnövekedett élettérnek. Vaktában ugrálnak egyik kutyáról a másikra. Kérdés: a „tiszta kutya" és a „piszkos kutya" tartós barátkozása után melyik fog jobban vakarózni?

A választ modelljáték adhatja meg. Számozzunk meg hat papírkorongot 1-től 6-ig. Ezek a Bolhák. Rajzoljunk két nagy négyzetet egymás mellé. Ezek a Kutyák. Kezdetben tegyük mind a hat korongot a bal oldali négyzetre. (Ez a Piszkos Kutya. A jobb oldali üres négyzet a Tiszta Kutya.) Dobjunk sokszor egy játékkockával. A kidobott számot viselő Bolhát tegyük át a másik Kutyára (4. ábra). Azt tapasztaljuk, hogy a Piszkos Kutya bolháinak száma csökkenő



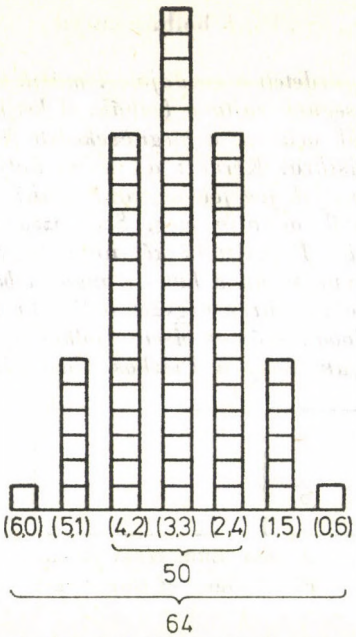
4. ábra. EHRENFEST *játéka*
Fig. 4. Game of EHRENFEST

tendenciát mutat: a Tiszta Kutya felé áramlanak a bolhák. Egy idő után azt tapasztaljuk, hogy tovább ugrálnak ugyan a Bolhák oda-vissza, de az egyirányú bolhaáramlás mégis megállt. A két Kutyán átlagosan ugyanannyi Bolha van (egyformán vakaróznak). A Piszkos Kutya bolhaszáma is, a Tiszta Kutya bolhaszáma is 3 körül ingadozik (legtöbbször 2 vagy 3 vagy 4). Annak esélye, hogy egy Kutya spontán bolhamentessé váljék, a gazda beavatkozása nélkül megtisztuljon: elhanyagolható.

A kockadobáshoz kapcsolt játékszabály nem részesíti előnyben egyik Kutyát sem. Minden bolhaugrás reverzibilis, a Bolha egyforma szívesen ugrik ide és oda. A Bolhasokaság együttes viselkedése azonban irreverzibilis: a kezdőállapottól független egyensúly alakul ki.

Minden egyes Bolha egyforma szívesen tartózkodik bármelyik Kutyán, így a Bolhák bármelyik elhelyezkedése egyformán valószínű. Vágjunk ki kártyalapot és írjuk rá a Bal oldali Kutya különböző lehetséges bolhakészleteit: a rajta tartózkodó Bolhákat jellemző számokat. (Az egyik kártyán 123456 lesz: minden Bolha a Bal oldali Kutyán. Egy másik kártyán 12345, egy harmadikon 23456 stb., azaz öt Bolha a Bal oldali Kutyán.) Mivel bármelyik Bolhának két lehetősége van, ez hat Bolhára összesen $2^6 = 64$ elhelyezkedést jelent. 64 kártyalapunk lesz. Keverjük meg a paklit és húzzunk. Jegyezzük fel, hogy a kihúzott lap szerint éppen hány Bolha van a Piszkos Kutyán, majd a lapot még a következő húzás előtt dugjuk vissza a pakliba. Milyen lesz a húzásokkal nyert bolhaszámok gyakoriságeloszlása?

Bolhamentes lap van $\binom{6}{0} = 1$, *egybolhás lap* $\binom{6}{1} = 6$, *kétbolhás lap* $\binom{6}{2} = 15$, *hárombolhás lap* $\binom{6}{3} = 20$, *négybolhás lap* $\binom{6}{4} = 15$, *ötbolhás lap* $\binom{6}{5} = 6$, *hatbolhás lap* $\binom{6}{6} = 1$. *A 64 lap közül 50 olyan, hogy 2, 3 vagy 4 Bolha van a Bal oldali Kutyán (5. ábra). És csak egyetlen, amely szerint nincs Bolha rajta. Érthető, hogy egyensúly áll be: a Kutyák bolhaszáma kiegyenlítődik. Egyforma erősen vakaróznak.*



5. ábra. A bolhaeloszlások száma

Fig. 5. Number of the different distribution of fleas

[*A játék a statisztikus véletlenek halmozódása által előidézett változást szemlélteti. Arra mutatott példát, hogy a statisztikus véletlenek halmozódása jól meghatározott végállapot kialakulására vezetett. Két összenyitott gáztartály közt kiegyenlítődik a gázsűrűség. Két közlekedő vizestartály közt kiegyenlítődik az oldatkoncentráció.* EHRENFEST [13] *bolhajátéka ennek a kiegyenlítődési tendenciának, a termodinamikai egyensúly kialakulásának statisztikus okát szemléltette. A fent kapott 1, 6, 15, 20 számok logaritmusa adja az egyes kutyaállapotok entrópiáját. Külső beavatkozás híján az növekedni szeret, fogyni nem.*]

3A. A két főtétel

Környezetétől elszigetelt test E energiája állandó. E csak akkor változhat, ha a test energiát vesz fel környezetéből (vagy energiát ad le). A felvett energia a test egyetlen szabadsági fokára összpontosulhat (pl. kizárólag a tömegközéppont magasságát vagy annak sebességét növeli), ilyenkor az energiafelvétel nem fokozza a rendetlenséget a testen belül. A belső rendetlenséget nem befolyásoló energiaközlés neve: munka (W). Ha viszont a szerzett energia a test szabadsági fokaira szétszórtan érkezik, Q hőközlésről beszélünk. [Molekuláris képben: a leejtett kanál minden molekulájának sebessége Δt idő alatt ugyanazzal a $\Delta \mathbf{v}$ vektorral nő, az egyes molekulák $m\Delta \mathbf{v}$ lendületnövekményei párhuzamosak. Így a munkavégzés makroszkopikus lendületváltozással társul, ezért $W = \mathbf{F} \cdot \mathbf{s}$ szerint számítható. F a lendületváltoztató erő, s pedig a test (tömegközéppontjának) elmozdulása. — A forró teába tett

kanalat össze-vissza érik a gyorsabb vízmolekulák ütései. A kanál részecskéi kapnak energiát, de az átadott lendületek irányai mindenfélék, eredőjük zérus. A Q hőközlés nem jár eredő lendületnövekedéssel.] Sok szabadsági fokkal rendelkező anyagtömb viselkedése szempontjából érdemes megkülönböztetnünk az energiaszerzés két módját:

$$E_2 - E_1 = W + Q \qquad \text{(I)}$$

Ez a termodinamika **Első Főtétele.**

Egy anyagtömb rendetlensége növekedhet belső energiadisszipáció folytán (σ), de a környezettel fennálló kapcsolat esetén növelheti azt hőközlés (Q) is. Nyugodtan rendeződött (hideg) testben ugyanakkora Q hő közlése jobban fokozza a rendetlenséget, mint izgatottan rendetlen (forró) testnél:

$$S_2 - S_1 = \sigma + \frac{Q}{T}, \text{ ahol } \sigma \geq 0 \qquad \text{(II)}$$

$$(\sigma = 0, \text{ csak ha } T = 0 \text{ vagy } S = S_{\max}).$$

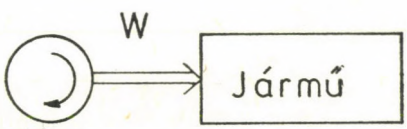
Ez a termodinamika **Második Főtétele.** A (II) egyenlet a T hőmérséklet definíciójának is tekinthető. Ha azonban az ideális gázt össze-vissza röpködő kemény golyókkal modellezzük, amelyek rugalmasan ütköznek egymással és a tartály falával, akkor belátható, hogy a gázhőmérő által mért hőmérséklet a (II)-ben szereplő T-vel egyezik.

A hőmérséklet egysége az entrópiakitevő alapjának választásától függ. CELSIUS a hőmérsékletet más módon (a víz forrpontja és fagypontja közt levő hőmérséklet-különbség egy századaként) értelmezte (K fok), így a (II) képlet dimenziós egységet rendel az entrópiához is: J/K. Ennek a történeti entrópiaegységnek megfelelően S értelmező egyenletét a következőképpen kell átalakítanunk:

$$Z = e^{S/k}, \text{ vagyis } S = k \ln Z.$$

Itt $k = 1{,}3806 \cdot 10^{-23}$ J/K a BOLTZMANN-állandó.

Az Első és Második Főtétel felismerése az ipari forradalom vívmánya. Ekkor váltotta fel az emberi munkát a gép (gőzgép, robbanómotor). Semmiből a gép sem nyerhet energiát (elsőfajú perpetuum mobile nem létezik, *6. ábra*), de



6. ábra. Elsőfajú perpetuum mobile
Fig. 6. Perpetuum mobile of the first kind

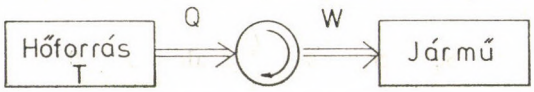
energiaforrásul használható pl. egy T hőmérsékletű környezet, amely Q hőt ad a gépnek, és azt a gép (pl. gáz kitágulása révén) W munkává alakítja. Ha azonban azt akarjuk elérni, hogy a motor folyamatosan működjön (ne

forrjon fel, ne olvadjon meg), akkor a gép energiája nem változhat. Minden fordulat után újra az eredeti szintre kell visszatérnie:

$$E_2 - E_1 = Q_{be} - W_{ki} = 0, \qquad \text{(Ia)}$$

tehát $W_{ki} = Q_{be}$. Hőt folyamatosan és veszteség nélkül munkává alakító motort perpetuum mobilének neveznénk (*7. ábra*). De az ilyen gépben $\sigma > 0$ és $Q_{be} > 0$ folytán nő a rendetlenség:

$$S_2 - S_1 = \sigma + \frac{Q_{be}}{T} > 0. \qquad \text{(IIa)}$$

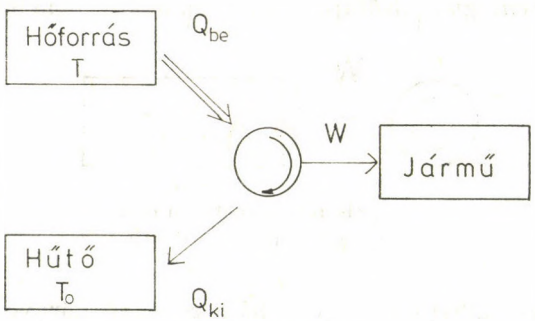


7. ábra. Másodfajú perpetuum mobile
Fig. 7. Perpetuum mobile of the second kind

Egy kocsitulajdonos sem örülne, ha a motorban egyre nagyobb rendetlenséget tapasztalna, ez csakhamar lehetetlenné tenné a folyamatos üzemet. Valahogy meg kell szabadulni az entrópiaszaporulattól. (II) jobb oldalán csak egy tag lehet negatív: Q. Entrópiacsökkenés csak hőleadással képzelhető el. A motorhoz a T hőmérsékletű hőforráson kívül illesszünk egy másik testet is, amelynek T_0 a hőmérséklete. A motornak a T hőmérsékletű testből nyert Q_{be} energia egy részét a T_0 hőmérsékletű testbe kell juttatnia: Q_{ki}, hogy ezáltal újra visszacsökkenthesse a megnövekedett entrópiáját. A maradék végzi a W munkát. Az ilyen körfolyamatban dolgozó h ő g é p folyamatos működésének a feltétele (*8. ábra*):

$$E_2 - E_1 = Q_{be} - Q_{ki} - W_{ki} = 0, \qquad \text{(Ib)}$$

$$S_2 - S_1 = \sigma + \frac{Q_{be}}{T} - \frac{Q_{ki}}{T_0} = 0. \qquad \text{(IIb)}$$



8. ábra. Hőgép
Fig. 8. Heat mashine

(A képletekben minden betű pozitív mennyiséget jelöl.) A két egyenlet kielégíthető, ha $T_0 < T$. Az alacsonyabb T_0 hőmérsékletű hűtő tehát lehetővé teszi a hőgép működését: a motorban egy teljes fordulat után visszaáll az energia és entrópia kezdeti értéke. (IIb)-ből

$$Q_{ki} < \frac{T_0}{T} Q_{be}, \text{ ha } T_0 < T,$$

így

$$0 < W_{ki} = Q_{be} - Q_{ki} < \frac{T - T_0}{T_0} \cdot Q_{be},$$

azaz pozitív W_{ki} munka nyerhető. A nyert W_{ki} munka és befektetett Q_{be} hő viszonya a hőgép energiaátalakításának hatásfoka:

$$\frac{W_{ki}}{Q_{be}} < \frac{T - T_0}{T}.$$

Annál jobb a motor hatásfoka, minél melegebb (T) a hőforrás és minél hidegebb (T_0) a hűtő. (100% hatásfok nem érhető el.)

„Mekkora munkát végez a szenesember, ha 50 kg tömegű szeneszsákot vízszintes úton elcipel 500 m távolságra?" — Ezt a kérdést a fizikatanárok beugratásnak éreznék, és készek volnának a válasszal: „A vízszintes elmozdulás merőleges a függőleges erőre, ezért fizikai értelemben nincs munkavégzés." — Nem ajánlatos ezt az érvelést a szenesembernek elmondani, mert még méregbe gurul. Tudtunkra adná, hogy alaposan elfárad cipekedés közben, jobban meg is éhezik, mint az üldögélő fizikusok. Fizetséget kér, mert a szalonna pénzbe kerül.

A szenesember, miközben vállán cipeli a zsákot, nincs termodinamikai egyensúlyban [23, 36]. (Ha letakarnók egy üvegburával, egy év után nem az eredeti állapotban látnánk viszont.) Sőt annál messzebb van az egyensúlytól, minél nehezebb a felemelt zsák. Szervezetében az entrópiatermelés $\sigma > 0$. Ha regenerálni kívánja szervezetét, az entrópiaszaporulattól meg kell szabadulnia. Ennek egyetlen módja a fokozott hőveszteség:

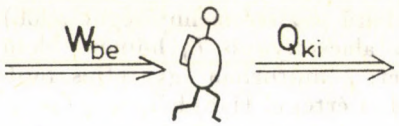
$$S_2 - S_1 = \sigma - \frac{Q_{ki}}{T} = 0. \qquad \text{(IIc)}$$

De másnapra vissza kell állítania a szervezet energiatartalmát is:

$$E_2 - E_1 = W_{be} - Q_{ki} = 0. \qquad \text{(Ic)}$$

Az energiát lehetőleg rendezett formában kell felvennie, hogy feleslegesen ne szaporítsa entrópiáját. Azért eszik szalonnát, mert így apoláros kémiai kötésekben tárolt energiához jut. Ezeket poláros kötésekké rendezi át, a közben lezajló redoxfolyamatban energia szabadul fel. És azért izzad a szenesember, hogy hőt veszítsen, vele megszabaduljon energiafölöslegétől (*9. ábra*). Szükséges tehát munkavégzés, mégpedig (Ic) és (IIc) értelmében

$$W_{be} = Q_{ki} = T\sigma > 0.$$



9. ábra. Élőlény
Fig. 9. Living being

A felnőtt élőlény olyan állandósult nyílt rendszer, amely nincs termodinamikai egyensúlyban. Rajta energia áramlik át, hogy kimossa a szervezetben folyamatosan termelődő entrópiát. (Az alvó ember teljesítményigénye 70 W, az ülő emberé 85 watt, a vízszintesen sétálóé 250 W. Ez nehéz terhet hordó embernél 500 W-ra felnő. Ha tehát a szenesember 10 perc alatt teszi meg az 500 m utat, példánkban $W_{be} = 300$ kJ.)

A növekvő szervezet az energiaátáramlás nagyobb intenzitásával, fokozott táplálékfelvétellel az anyag organizációját fokozni, az anyag entrópiáját csökkenteni is képes. Ilyen növekvő organizáció jellemezte a Földet is, miközben megjelent rajta és elterjedt a növényi és állati élet. A Föld a Naptól kap energiát, a napsugárban Q_{be} hőmennyiség érkezik. Az éghajlat mégsem melegszik szakadatlanul, mert (pl. éjszaka) a talaj Q_{ki} hőt visszasugároz a világűrbe. A kettő évi átlagba kiegyenlíti egymást:

$$E_2 - E_1 = Q_{be} - Q_{ki} = 0. \qquad \text{(Id)}$$

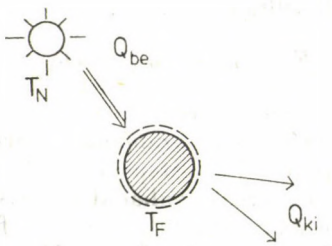
Mi az entrópiamérleg? A napfény a $T_N = 6000$ K felületi hőmérsékletű Napról érkezik, a földi talaj $T_F = 300$ K hőmérsékleten van,

$$S_2 - S_1 = \sigma + \frac{Q_{be}}{T_N} - \frac{Q_{ki}}{T_F} = 0. \qquad \text{(IId)}$$

Mivel $T_N = 20\ T_F$,

$$S_2 = S_1 + \sigma - 19\,\frac{Q_{be}}{T_N} < S_1$$

is lehet (*10. ábra*).



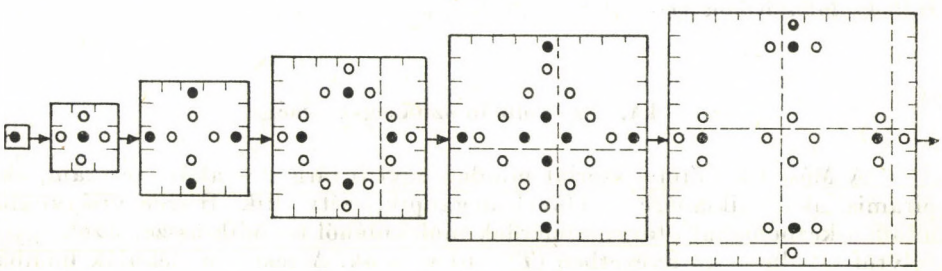
10. ábra. Bioszféra
Fig. 10. Biosphere

Mindezt szemléletesebben is elmondhatjuk. A napfény látható fotonjai hússzorta nagyobb $h\nu$ energiájúak, mint a talaj által kisugárzott infravörös fotonok. (A WIEN-féle eltolódási törvény szerint $\nu_N : \nu_F = T_N : T_F$.) Ha a napfény fotonjai Q energiát behoztak, akkor ugyanezt az energiát az infravörös talajsugárzás formájában hússzor több foton viszi el. Nem csoda, hogy az infravörös sugárzás hússzorta több kvantuma nagyobb rendetlenséget von el a Földtől, mint amekkorát a napfény beérkező kvantumai keltettek!

Ezekután megfogalmazhatjuk első következtetésünket. Az élőlények állandósult szervezete, sőt az élet kialakulása és terjedése nem áll ellentétben a Második Főtételben megfogalmazott disszipatív tendenciával. A fizika törvényei a legszélesebb körben, az élő testben is korlátozás nélkül érvényesek.

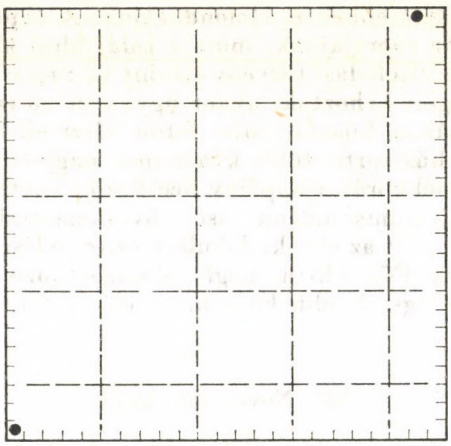
3B. Növekedés játék

Világunk egy kétdimenziós négyzethálózat, mondjuk: egy sakktábla. A játék elemei egyforma gombok (pénzérmék, zsetonok). Egy mezőn vagy van egy gomb, vagy nincs egy sem. Hogy miként történik a véges időegységekben lezajló változás, hogy miben különböznek egymástól az egymást követő gombgenerációk, azt a négy szomszédos (felette, alatta, jobbra, balra levő) négyzet által alkotott környezet befolyásolja: Egy üres négyzetre akkor és csak akkor születik új gomb, ha környezetében összesen egy gomb található. (Tehát semmiből nem lesz semmi. Új gomb születéséhez már meglevő gomb szükséges. Túl sok szomszéd, 2, 3, 4 akadálya a szaporodásnak.) — Minden gomb összesen két időegységet, két generációt él. — A páros és páratlan generációk szülötteit érdemes megkülönböztetni: előbbieket „fej", utóbbiakat „írás" helyzetben letett gombok (pénzérmék, zsetonok) jelentik. Így az elhalálozás könnyen számon tartható. Az egyszerű (akár aszimmetrikus) gombhelyzetekből szemünk láttára esztétikusan szimmetrikus minták bontakoznak ki (11. ábra). — Izgalmassá akkor válik a történet, ha két



11. ábra. Növekedés
Fig. 11. Growing

független terjeszkedő minta összeér. Ekkor versengés indul meg. Pl. figyelmet keltett a következő történet: Egy 23×23 négyzetet tartalmazó méreten felüli sakktáblára a 12. ábra szerint helyezzünk el egy-egy gombot. A két távoli magból egymástól független minták bontakoznak ki. (A tábla szélén túlnőni nem lehet, a tábla pereme mindig üresnek számít.) Összeéréskor mintha harc indulna meg a két terjedő minta között: 33 generáció után az egyik minta teljesen kipusztul a másik, túlél.



12. ábra. Kezdőállapot a növekedés-vetélkedőhöz
Fig. 12. Initial state to growing competition

[*Ez véletlen elemet nem tartalmazó sejtautomata, ahol a kezdőállapot mindent teljesen determinál, akárcsak a kauzális játék sejtautomatájánál. Egy dimenzióból kétdimenziós modellvilágba tértünk át, így a formák kibontakozásában, szimmetriák születésében gyönyörködhettünk. Egyeseket talán életjelenségekre emlékeztethet a minták kibontakozása, de ez még nem indokolt, hiszen kristályok növekedése, egy hópehely születése hasonló élményt kínál. A játékot korunk egyik legtehetségesebbnek mondott matematikusa, az atombomba előállításához vezető* MANHATTAN-*terv szürke eminenciása találta ki:* STANISLAW ULAM. *Ő azt kívánta szemléltetni, hogy egyszerű kölcsönhatási és mozgástörvény magasrendű szimmetriák kialakulásához vezethet* [21, 49, 51].]

4A. Az evolúció szükségszerűsége

A Második Főtétel szerint minden egyedi tárgy — akár szerszám, akár piramis, akár sziklabérc — idővel megkopik, szétmállik. Hiszen világunkban minden kézbefogható tárgy tömérdek molekulából tevődik össze. Ezek egyensúlytól távollevő környezetben ($T > 0$) vannak. A testet molekulák bombázzák rendszertelenül. Ilyen „zajos" világban szüntelen növekszik az entrópia.

Az élőlények önreprodukcióra képesek. Az ilyen szervezeteknek más a sorsuk. Tekintsünk egy önreprodukáló organizmust, pl. egy algát (információhordozó DNS + a reprodukció elemi lépéseit katalizáló enzimek + megfelelő kémiai milliőt magábazáró sejtfal), amelyik 60 percenként osztódik. Az önmásolás azonban zajos környezetben folyik, nem sikerülhet minden tökéletesre. Egyszer megszületik egy hibás másolat, amely kevésbé illeszkedik környezetéhez, nehezebben veszi fel a táplálékot, így 75 percre van szüksége egy másolat elkészítéséhez. Gondoljuk el, hogy a tápoldatba vasárnap éjfélkor egy jó (60 perces) és egy hibás (75 perces) példány kerül. 5 óra múlva (hétfő

hajnalban) egy jó példány ötször osztódik (2^5 példány lesz belőle), a hibás pedig csak négyszer (2^4 példány). 60 óra múlva (szerda délben) a jó változat 60 generációja született meg (2^{60} példány), a hibás változatnak viszont csak 48 generációra volt elég ez az idő (2^{48} példány). Az algapopulációban a hibás változatok aránya két és fél nap alatt 50%-ról messze 1‰ alá csökken! A hibás változat rövid idő alatt kiküszöbölődik. Az egyedi tárgyaktól eltérően az önreprodukáló szervezetek populációja nem kopik.

Megváltozik a környezet. (A régi környezet átalakul, pl. új kémiai anyag mosódik a tóba. Vagy az élőlény máshová, eltérő környezetbe vetődik, ahol pl. más a vizes oldat kémiai összetétele.) Ilyenkor megeshet, hogy az élőlény eredeti változata az új környezetben nem a legelőnyösebb. De a Második Főtétel értelmében időnként a mintától kicsit eltérő másolatok is készülnek: mindig létrejönnek új változatok. Közülük hamar kiküszöbölődnek mindazok, amelyek csekély módosulása előnytelen tulajdonságokat eredményezett. Ha azonban az egyik változat élni tud a megváltozott külső feltételekkel (pl. készen hasznosítja a vízbe került új vegyületet, ahelyett, hogy maga szintetizálná azt), akkor rövidebb idő alatt képes osztódni. Mondjuk, 50 perc alatt a 60 helyett. Vasárnap éjfélkor egy eredeti (60 perces) és egy új (50 perces) példány került a tó menti pocsolyába. 5 óra múlva az eredeti példány 5 generációja 2^5 példányt hozott létre; az új változatnak 6 generációja követte egymást, 2^6 egyed keletkezett. Hétfő hajnalban már kétszer annyi új fajta alga van, 60 óra múlva (szerda délben) már az új változat teszi ki az algapopulációnak több mint 99%-át!

A faj igen gyorsan illeszkedik a változó környezethez, egy természetes populáció legnagyobbrészt a környezetet legjobban kihasználó változatból tevődik össze. De 100%-osan hű másolatok nem tennék lehetővé a változások követését. A legjobb variáns példányai mellett átmenetileg jelen van a legjobb megoldás véletlen mutációiként létrejött változatok széles spektruma. A természetes kiválasztódás nem a lehetséges, hanem a valóságos élőlények között működik! Az előző fejezetben láttuk, hogy a Második Főtétel nem áll ellentétben az élet létezésével. Most viszont arra a következtetésre jutottunk, hogy ennél sokkal több igaz: a környezethez történő folyamatos illeszkedés, így a biológiai evolúció éppen az önreprodukáló szervezetre alkalmazott Második Főtétel következménye.

A természeti jelenségeknek tehát három szintjét különböztethetjük meg.

A. Az egy-két szabadsági fokkal bíró anyagi rendszerek mozgását determinisztikus mozgástörvény írja le (NEWTON-, MAXWELL-, SCHRÖDIGER-, DIRAC-egyenlet), amely időtükrözéssel szemben szimmetrikus differenciálegyenlet. Az ilyen mozgás reverzibilis. (Pl. a matematikai inga lengése, merev golyók ütközése, bolygó keringése, elektron mozgása a hidrogénatomban.)

B. A nagyon sok szabadsági fokkal rendelkező anyagtömbökben a Második Főtétel szerint egyre fokozódik a rendetlenség. Zajos környezetben ($T > 0$) sok molekulából felépített tárgyak kopnak, szétesnek. Az anyaghalmazok viselkedése tehát irreverzibilis, azt spontán disszipáció jellemzi. (Ilyen minden kézbefogható makroszkopikus tárgy, sőt az egész univerzum.)

C. Önmaguk lemásolására képes organizmusok populációja zajos (sok szabadsági fokú) környezetben sem kopik: az organizmuson átfolyó energia változatlan, sőt csökkenő szinten tarthatja az entrópiát. Az önreprodukáló

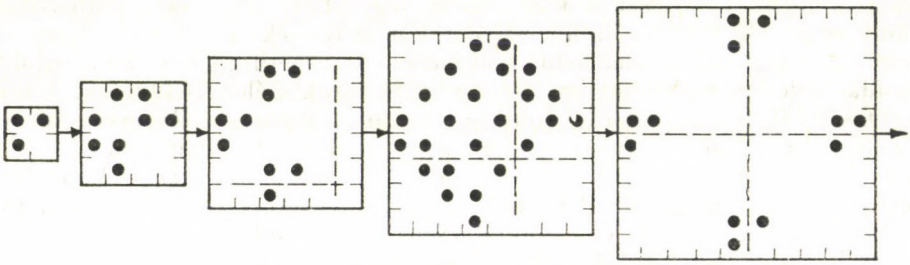
organizmus hibás másolatait kiiktatja a természetes kiválasztódás. Sőt, az ilyen populáció éppen a Második Főtétel következtében folyamatosan illeszkedik változó környezetéhez. Az önreprodukáló szervezet populációjának viselkedése is irreverzibilis: az idő előrehaladtával szükségszerű biológiai evolúció megy végbe. (Ilyen rendszerek ismert példái a földi élőlények és azok működésének néhány megnyilvánulása [10, 11].) I. J. Good ezt nevezi Negyedik Főtételnek.

4B. Szaporodás játék

[*Több társasjáték létezik, ami a struktúra reprodukciójához vezet. Itt egy szinte triviálisan áttekinthető változatot mutatunk be.*]

Világunk ismét kétdimenziós: a sakktábla négyzethálózata. Erre helyezzünk el néhány gombot. A gombok egyformák. Egy mezőn egy gomb van, vagy egy sincs. A mezőn véges lépésekben követik egymást a gomb-generációk. Hogy a következő lépésben mi történik egy négyzeten, azt négy szomszédos (felső, alsó, jobb oldali, bal oldali) négyzet által alkotott környezet gombnépessége szabja meg. Egy négyzet a következő lépésben üres lesz (üres marad), ha páros számú (0, 2 vagy 4) gomb-szomszédja volt. A négyzeten egy gomb lesz (egy gomb marad) a következő generációban, ha páratlan számú (1 vagy 3) gomb-szomszédja volt.

Rakjunk ki a táblára néhány gombot, majd hagyjuk sorsára. A játékszabály determinálja a gomb-népesség alakulását a következő generációkban. Azt tapasztaljuk, hogy minden struktúra véges idő letelte után megnégyszereződik (13. ábra).



13. ábra. Szaporodás játék
Fig. 13. Multiplication game

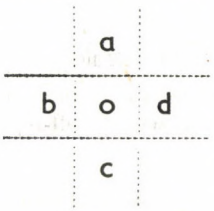
[*Ennek a sejtautomatának a működése sem tartalmaz véletlen mozzanatot.* Edward Fredkin *találta ki 1961-ben* [21].]

5A. A reprodukció lehetősége

Az evolúció szükséges feltétele önreprodukáló struktúra léte volt. Hogy az önreprodukáló organizmushoz nem szükséges külön deus ex machina, hogy nem kell feltételezni egy specifikus vis vitalis működését, hanem egyszerű fizikai, sőt matematikai elemek képesek önreprodukáló struktúra felépítésére, azt elsőként Neumann János bizonyította be még az ötvenes évek legelején, a DNS szerkezetének és szerepének tisztázása, a molekuláris

biológia kibontakozása előtt [41]. NEUMANN ilyen irányú érdeklődése vezetett el a sejtautomaták elméletének kiépítéséhez [4, 42, 49], ami jelentősen befolyásolta a számítógépek, az agy működésére és az élet kibernetikájára vonatkozó elgondolásunkat.

NEUMANN világa egy nagy kiterjedésű négyzethálózat, egy hatalmas sakktábla. Egy négyzeten egyetlen elem (atomot vagy sejtet szimbolizáló zseton) tartózkodhat, vagy egy sem. NEUMANN tételének bizonyításához feltételezte, hogy a zseton huszonnyolc különböző kvantumállapotban lehet, mondjuk így: huszonnyolc színt ölthet magára. (A négyzet üres voltát 0, az ottlevő zseton valamelyik színállapotát az abc valamelyik kisbetűje jelölheti.) Az idő véges egységenként változik, egy időegység elmúlása megváltoztathatja a négyzet állapotát. Az új állapotot a négyzet előző állapota és a négy szomszédos mező állapota határozza meg egyértelműen. Ha egy négyzet 0 állapotban van, és a környezete is üres, akkor az új állapot is üres lesz. De ha a környezetben meghatározott színű sejtek találhatók, akkor a szemügyre vett négyzeten meghatározott színállapotú zseton jelenik meg. Mondjuk, a *14. ábrán* szemléltetett környezet azt eredményezi, hogy a középső négyzet 0 állapota f-re változik. NEUMANN-nak azért volt szüksége ennyi színre, hogy a zseto-

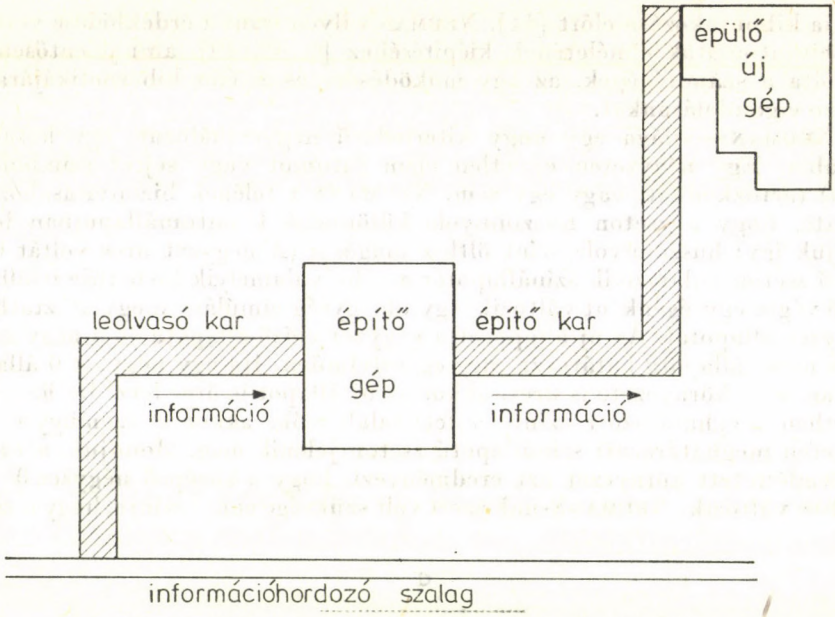


14. ábra. Környezet a NEUMANN-féle sejtautomatában
Fig. 14. Environment in NEUMANN's cellular automata

nok elég sokféle funkciót elláthassanak, de NEUMANN modellvilága még így is nagyon egyszerű az atomok világának gazdagságához viszonyítva. Egyszerű a közelhatás is: bármilyen színváltozást a zseton előző pillanatban mutatott színe és a közvetlen környezetben levő, érintkező zsetonok színe határoz meg egyértelműen.

NEUMANN ebben a modellvilágban önreprodukáló struktúrát tudott szerkeszteni. A szerkezet két részből épült fel: egy információt hordozó szalagból és egy szerszámgépből. Utóbbi meghatározott színű új zsetonokat képes kirakni a sakktábla megfelelő helyeire a szalagra feljegyzett, onnan leolvasott információ alapján. Ha a szalagon annak receptje van feljegyezve, hogy miként kell lemásolni a szalagot, azután miként kell mellé egy új szerszámgépet felépíteni, akkor a struktúra önreprodukcióra lesz képes (*15. ábra*). A teljes szerkezethez 200 000 zsetonra volt szükség.

NEUMANN JÁNOS sokat foglalkozott sok elemből felépülő számítógépek építésével olyan időben, amikor a számítógép alapvető egysége az elektroncső volt, ez a könnyen hibásodó egység. Hogyan lehet megbízhatatlan elemekből megbízható struktúrát építeni [42]? Fűzzük tovább NEUMANN gondolatmenetét! Ha az önmagát reprodukáló determinisztikus sejtautomatához egy hibaforrást (zajgenerátort) illesztünk, ha a környezet néha beleszól az önmásolás monoton precízitásába, a szaporodás mellett lehetőség támadhat az evolúcióra is . . .?



15. ábra. NEUMANN önreprodukáló automatájának vázlata
Fig. 15. Sketch of NEUMANN's self-reproducing automata

A természetben atomok nyüzsögnek, ütközéseikben disszipálódik az energia, miközben a természet új meg új molekuláris elrendeződéseket produkál egy bolygónyi sakktáblán, másodpercenként sokmilliárdszor lépve. NEUMANN tétele szerint egyszerű elemek összekapcsolódása megteremtheti (előbb-utóbb megteremti) az önreprodukció lehetőségét. Minden atom egyértelmű fizikai mozgástörvények szerint mozog. Az élet mégis minőségileg különbözik az élettelentől, hiszen a Második Főtétel önreprodukáló struktúrák populációjában másként jelenik meg, mint egyedi tárgyaknál.

NEUMANN JÁNOS 1951-ben publikálta sejtautomata-modelljét és tételét. WATSON és CRICK 1953-ban ismerte fel, hogy az élőlény receptje a DNS egydimenziós szalagjára van feljegyezve. Az élő szervezet (a benne működő sok enzimfehérje) pedig végrehajtja a DNS-szalag által tartalmazott utasítást, többek közt a DNS-szalag másolatának összeillesztését. ORGEL [44] így sűríti össze a tanulságot: Az élőlény egy komplex információátalakító és önmagát reprodukáló struktúra, amely természetes kiválasztódás által fejlődik.

5B. Az életjáték

[NEUMANN JÁNOS*tól inspirálva sokan próbálkoztak olyan modell megalkotásával, amely elég egyszerű, mégis magávalragadó módon szemlélteti, hogy az alkotóelemek egyszerű viselkedése is lehetővé teszi sokoldalú struktúrák kialakítá-*

sát. A gazdag viselkedési formákhoz nem szükséges deus ex machina. Legnagyobb érdeklődést az a passziánsz-játék keltett, amelyet JOHN HORTON CONWAY, *a cambridge-i egyetem fiatal matematikusa dolgozott ki 1970-ben. Az általa Life néven bevezetett sejtautomata valóban izgalmasabb minden korábbi passziánsznál. Olyan lekötő, hogy felnőtt emberek órák hosszat ülnek a kockás papírra rajzolt világ előtt, elemi szabályok szerint változtatják a gombok helyzetét (vagy nézik a számítógép képernyőjét), izgatottan figyelik a különböző struktúrák törvényszerű végzetét: a lemerevedést, a halált vagy . . .*

CONWAY *a sejtautomatát a következő szempontok alapján tervezte meg:*

1. Ne létezzenek olyan kezdőstruktúrák, amelyekről könnyű belátni, hogy a sejtek száma korlátlanul szaporodik. (A szaporodás-játék túl szimpla volt!)

2. Legyenek olyan kezdőstruktúrák, amelyek látszólag szaporodásnak indulnak. (Ne legyen reménytelenül halott a játékmező.)

3. Legyenek egyszerű kezdőalakzatok, amelyek eleinte változatosan mozognak, akár növekednek is, végső sorsukra vonatkozóan pedig a következő alternatívák léteznek: kipusztulnak, mozdulatlanná merevednek vagy végtelenségig tartó periodikus mozgásba kezdenek.

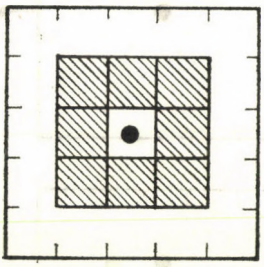
Ezzel CONWAY *arra törekedett, hogy az alakzatok sorsa ne legyen előrelátható, tehát a változások nyomonkövetése izgalmas legyen* [15, 20, 21, 25].

A kétdimenziós négyzetháló bármely négyzetén vagy van egy gomb, vagy egy sincs. Minden gomb egyforma. Sorsát a nyolc szomszédos négyzet befolyásolja. (Azok a négyzetek, amelyek oldalukkal vagy csúcsukkal érintik, 16. ábra.) A determinisztikus mozgástörvény a következő:

Születés: Ha egy üres négyzet 3 szomszédján van gomb, akkor a következő generációban erre az üres négyzetre gomb születik.

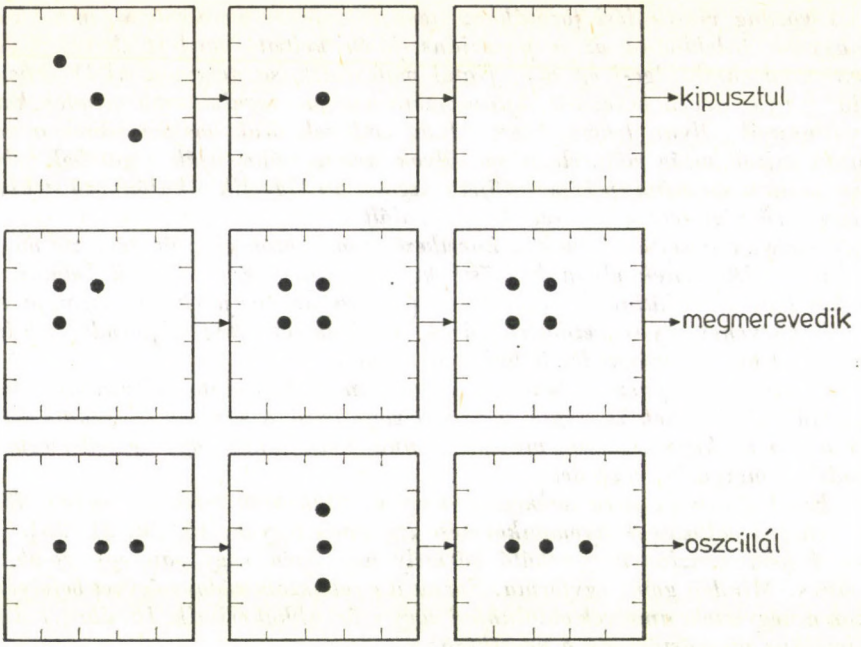
Túlélés: Ha egy gombnak 2 vagy 3 szomszédja van, a gomb túlél a következő generációban.

Halál: Ha egy gombnak túlságosan üres a környezete (0 vagy 1 szomszéd), izoláltsága miatt a következő generációra elpusztul. Ha egy gombnak túl népes a környezete (4, 5, 6, 7 vagy 8 szomszédos gomb), akkor túlnépesedés miatt a következő generációra meghal.

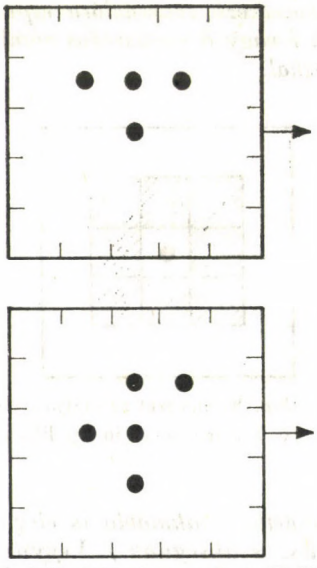


16. ábra. Környezet az életjátékban
Fig. 16. Environment in the life game

Indulhat a játék. Kezdetben sakktábla is elég lesz modellvilágul. (Később nagyobb négyzethálózatra lesz szükségünk.) Vegyünk elő egy csomó egyforma gombot. Néhány gombból rakjunk ki egy tetszőleges alakzatot. (Érdemes egyszerűvel kezdeni: 3 vagy 4 gombot tegyünk egymáshoz csatlakozó négyzetekre.) Ez az



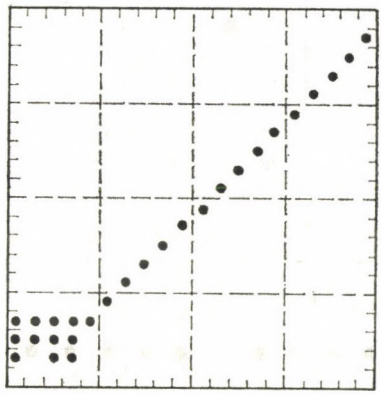
17. ábra. **Hármas alakzatok sorsa az életjátékban**
Fig. 17. **Fate of triplets in the life game**



18. ábra. **Kiinduló alakzatok az életjátékban**
Fig. 18. **Initial formations for the life game**

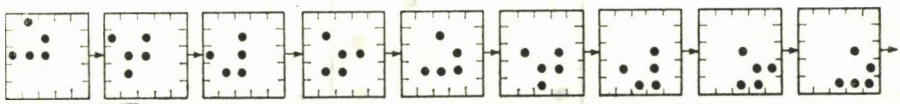
első generáció. Most keressük meg, hogy a következő generációra hol kell új gombnak születnie. A három szomszédú üres négyzetekre tegyünk egy megszületendő gombot felfordított helyzetben! Ezután távolítsuk el az eredeti alakzat halálraítélt gombjait (amelynek 2-nél kevesebb vagy 3-nál több szomszédjuk van). Majd a felfordított gombokat állítsuk talpukra: megszületnek. Így megkaptuk az új generációt jelentő alakzatot. (Könnyű hibát véteni, minden lépést érdemes ellenőrizni!) Ezután el is kezdhetjük az újabb generáció kialakítását.

A lehetőségek illusztrálására bemutatjuk néhány háromgombos kezdőalakzat sorsát (17. ábra). Ha nagyobb alakzattal kezdünk, azok eleinte rendszerint növekedésnek indulnak, majd a struktúra közepe a túlnépesedés miatt kiürül. Közben aszimmetrikus alakzatból is gyakran bontakozik ki szimmetrikus minta, és ez a szimmetria megmarad. Később a struktúra elszigetelt kicsi darabokra eshet szét. Ezek a töredékek vagy kihalnak, vagy lemerevednek, vagy mechanikus oszcillációba stabilizálódnak. Tipikus életpálya a T betű sorsa (18. ábra). Néha azonban előfordul, hogy nagyon egyszerű képződménynek is beláthatatlanul hosszú és változatos sors az osztályrésze. Pl. az r betű (18. ábra) sorsát 460 lépésen át követték, de ez nem volt elég a végkifejlet megismerésére.



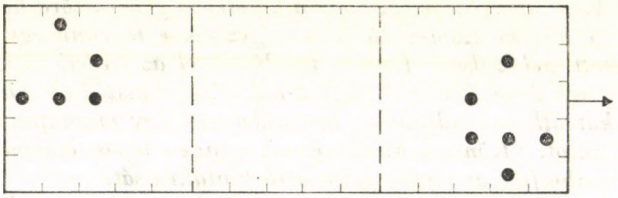
19. ábra. Automata fűrészgép
Fig. 19. Automatic sawing mashine

Figyelmet érdemelnek a helyzetváltoztató alakzatok. Így pl. a 19. ábra bal alsó sarkán levő fűrészgép végigmegy a végtelen fasor mentén, kivágja a fákat és szabályos farakásokat hagy maga mögött. A fecske (20. ábra) pedig négy generáció alatt átlós irányban egyet mozdul előre. Ha a hatás maximális terjedési

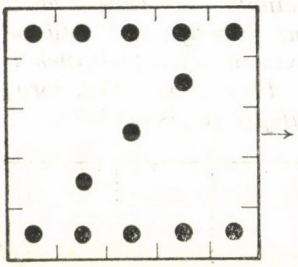


20. ábra. A fecske sorsa
Fig. 20. The fate of the glider

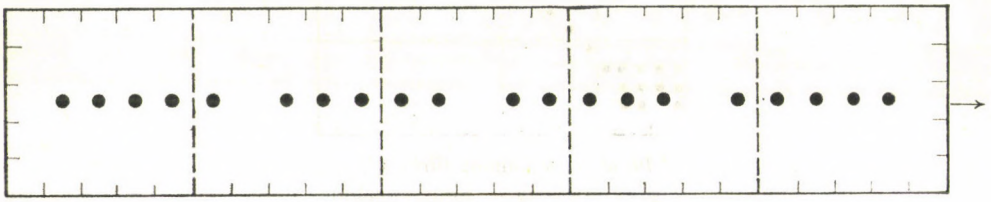
sebességét (a sakktáblán haladó „király" sebességét) fénysebességnek nevezzük, akkor a fecske átlósan negyed fénysebességgel repül. Izgalmas események történnek két fecske összeütközésekor. Pl. a 21. ábra szerint ütköző két fecske teljesen



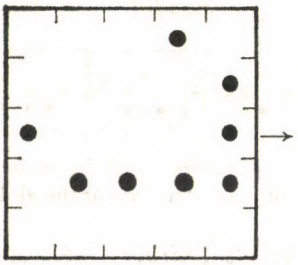
21. ábra. Két fecske ütközése
Fig. 21. Two gliders on a collision course



22. ábra. Párkeltés
Fig. 22. Pair creation



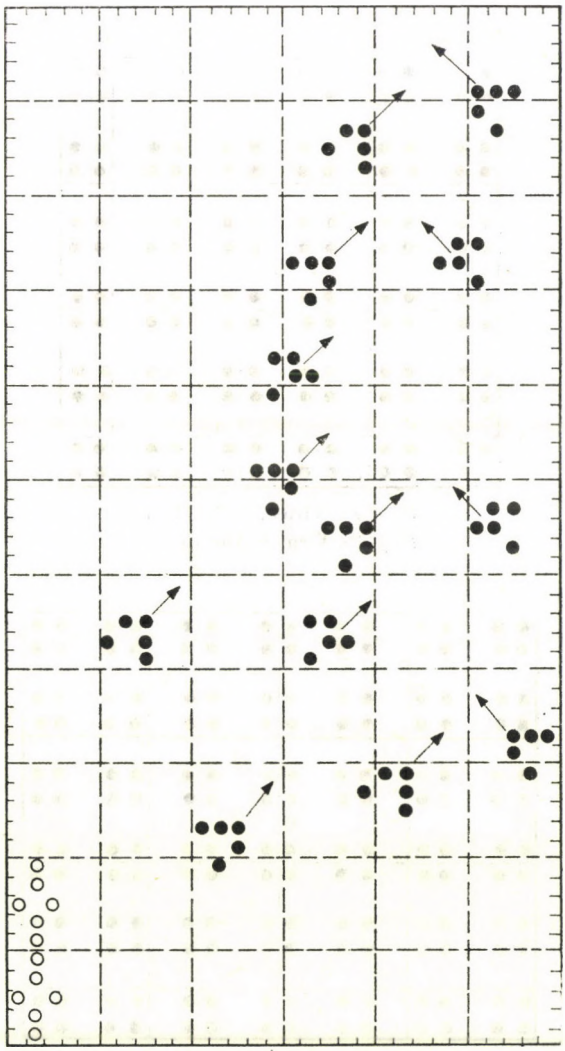
23. ábra. Négy kvintett
Fig. 23. Four quintet



24. ábra. Űrhajó
Fig. 24. Space ship

megsemmisül. A 22. ábrán mutatott Z betűből viszont két fecske kel ki, amelyek ellenkező irányban szétrepülnek. Az ártatlan kinézetű 23. ábrából 8 fecske kel ki, és sok stabil töredék is visszamarad. (Egy másik haladó alakzat a 24. ábrán bemutatott „űrhajó".)

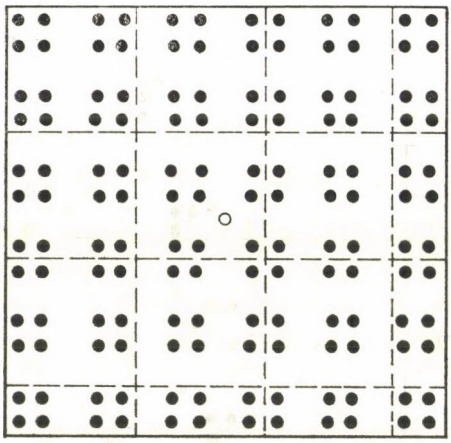
[CONWAY eredetileg azt hitte, hogy a L i f e játékban nem létezik korlátlanul növekvő-szaporodó struktúra. 50 dolláros díjat tűzött ki a kérdés eldöntésére. A felhívás hatására 1970-ben sok egyetemen nagyon felszökött a számítógépek igénybevétele. A díjat végül az MIT mesterséges intelligenciát kutató csoportja nyerte el.]



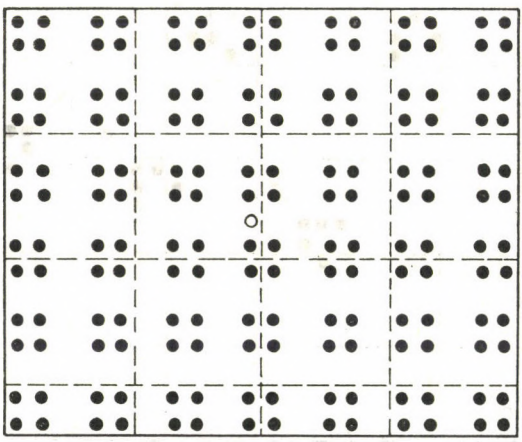
25. ábra. 13 fecske találkozik
Fig. 25. Thirteen gliders meet each other

Ha a 25. ábrán fekete pontokkal jelzett 13 fecske egymásnak repül, egyetlen lénnyé egyesülnek, amely lüktetni kezd. 100 generáció után megszüli az első fecskét, amely elszáll. A lény tovább lüktet, és minden 30. generációban újabb fecskét hoz a világra. Így akár a végtelenségig. Ez az elsőnek talált struktúra, amely a gombok számának korlátlan növekedését eredményezi: 13 fecske találkozása korlátlan számú fecskét produkálhat — valóban furcsa szexuális szokás ebben a kétdimenziós mesevilágban.

Drámai fordulat következik, ha a 13 fecske elindításával egyidőben egy rókát is beültetünk a mező alsó sarkába (fehér pontok a 25. ábrán). A róka békésen szuszog egyhelyben, 15 a periódusidő. Viszont felfalja az összes érkező fecskét anélkül, hogy felpuffadna.



26. ábra. Vírus a szövetben
Fig. 26. Virus in the tissue



27. ábra. Újabb vírus a szövetben
Fig. 27. An other virus in the tissue

A biológiai gondolatokat ébresztő példák közül még kettőt említünk meg. A 26. ábrán bemutatott szabályos négyzetes minta kiküszöböli a rácsmintába tett idegen gombot („vírust"), utána regenerálja önmagát. Ha viszont a „vírus" a 27. ábrán mutatott helyzetbe kerül, teljesen kipusztítja a rácsmintát!

A L i f e modell-világát még mindig nem ismerjük teljesen. Egy probléma: É d e n - á l l a p o t n a k nevezik a sejtautomaták olyan állapotát, amely nem lehet egy előző generáció terméke. Sikerült bebizonyítani, hogy a L i f e-ban kell léteznie Éden-állapotnak, de még senki nem tudott ilyent konkrétan kirakni. Pedig talán egészen egyszerű. A matematikai bizonyításból mindössze az derül ki, hogy biztosan el kell férnie egy $10^{10} \times 10^{10}$ méretű táblán.

[A L i f e-ban rejlő lehetőségek joggal izgatják a matematikusokat. WAINWRIGHT *például 120×120 méretű táblára vaktában elszórt 4800 sejtet és 450 generáción át figyelte mozgásukat számítógépén* [20]. *Ha elég nagyméretű a kétdimenziós táblánk, ha még több gombbal próbálkozunk, egyszer talán megfigyelhetnénk önreprodukáló struktúrák kialakulását! És mi történik, ha ennek jól szabályozott ciklusát véletlenszerűen elszórt gombok zavarják ?]*

6A. A szelekció matematikai modellje

R. A. FISHER és J. B. S. HALDANE nyomdokain járva, M. EIGEN [14, 17] alapján némi matematikával és sok egyszerűsítéssel bemutatjuk, hogy zajos környezet által kiváltott másolási hibák (mutációk) a természetes kiválasztás szükséges előfeltételét képezik. A fizikusok előtt a s z á m o l á s m ó d s z e r e ismert. A v é g e r e d m é n y t a biológusok előre tudják.

Egy populációban f számú különböző fajta egyedei vannak jelen. (A modellben egygénes egyedekre gondolhatunk. A „fajta" ekkor a gén egy változatát jelenti.) t pillanatban az i-ik fajta egyedszáma $N_i(t)$, tehát a teljes populáció létszáma

$$N(t) = \sum_j N_j(t). \tag{1}$$

A Második Főtétel értelmében szükségszerű az egyedi struktúra szétesése, az egyed halála. Ha $H_i\,dt$ annak a valószínűsége, hogy egy egyed dt időn belül meghal, akkor az N_i létszámú fajtában dt idő alatt bekövetkező halálesetek száma $N_i H_i\,dt$. A születések (reprodukciók, osztódások) új egyedeket eredményeznek. Ha egy egyed dt idő alatt $S_i\,dt$ utódot hoz létre, akkor a fajta dt idő alatt $N_i S_i\,dt$ egyeddel növeli a létszámát. A születést és elhalálozást figyelembe véve N_i változása

$$dN_i = (S_i - H_i)\,N_i dt, \quad \text{azaz} \quad \frac{dN_i}{dt} = (S_i - H_i)\,N_i.$$

Ha nem változik az egyedet körülvevő környezet, állandó S_i és H_i értéke. Így a differenciálegyenlet megoldása

$$N_i(t) = N_i(0)\,e^{(S_i - H_i)t}. \tag{2}$$

Látszik, hogy az i-ik fajta létszáma $(S_i - H_i)^{-1}$ idő alatt nő $e = 2{,}718\ldots$-szorosára. Az $S_i - H_i$ számot a fajta szaporodási rátájának nevezzük.

Mindeddig úgy számoltunk, mintha minden egyes reprodukció teljesen hű másolatot szolgáltatna. Zajos környezetben azonban másolási hibák is előfordulhatnak. Legyen Q_i a reprodukció jósági tényezője. Ekkor az i-ik fajtából származó $N_iS_i\,dt$ újszülött közül csak $Q_iN_iS_i\,dt$ növeli a szülő fajta létszámát. A mutációk miatt $M_{j\leftarrow i}N_iS_i\,dt$ hányad egy másik j fajtát szaporít. Az újszülöttek megoszlása tehát a következő:

$$N_iS_i\,dt = Q_iN_iS_i\,dt + \sum_{j\neq i} M_{j\leftarrow i}N_iS_i\,dt.$$

Innen leolvasható, hogy a jósági tényező

$$Q_i = 1 - \sum_{j\neq i} M_{j\leftarrow i} < 1. \tag{3}$$

Végeredményben az N_i létszámú fajta szegényedik a természetes elhalálozások miatt, gyarapodik saját szülöttei és más fajták ide mutált leszármazottai révén. Így az $N_i(t)$ létszám változásának sebessége

$$\frac{dN_i}{dt} = (Q_iS_i - H_i)N_i + \sum_{k\neq i} M_{i\leftarrow k}S_kN_k\,. \tag{4}$$

Feladatunk az $N_i(t)$ létszámok időbeli alakulásának vizsgálata a (4) egyenletrendszer alapján. Tételezzük fel, hogy a H_i halálozási és S_i születési valószínűségek időben állandóak, mert az egyed létfeltételei nem változnak.

Az egyenlet megoldása érdekében vezessük be a következő jelöléseket:

$$Q_iS_i - H_i = A_{ii}\,, \quad M_{i\leftarrow k}S_k = A_{ik}\ (i\neq k). \tag{5}$$

Ekkor (4) így foglalható össze:

$$\frac{dN_i}{dt} = \sum_k A_{ik}N_k(t)\,. \tag{6}$$

Írjuk fel a következő algebrai egyenletrendszert:

$$\sum_k A_{ik}u_k = ku_k. \tag{7}$$

Ennek akkor van $u_i \neq 0$ megoldása, ha

$$\text{Determináns } (A_{ik} - k\delta_{ik}) = 0. \tag{8}$$

Ez k-ra f-ed fokú egyenlet, amelynek f gyöke van: $k_1, k_2, \ldots k_f$. Szemeljük ki az egyik k_r gyököt. (7)-nek ehhez tartozó megoldásrendszerét jelölje $u_{1r}, u_{2r}, \ldots, u_{fr}$, azaz kielégül a

$$\sum_k A_{ik}u_{kr} = k_ru_{kr} \tag{9}$$

egyenlőség. Ez homogén egyenletrendszer, amely az $u_{1r}, u_{2r}, \ldots, u_{fr}$ számokat csupán egy közös szorzó erejéig határozza meg. Szorozzuk végig az $u_{1r}, u_{2r}, \ldots, u_{fr}$ számokat egy állandóval, hogy

$$\sum_i u_{ir} = 1 \tag{10}$$

legyen.

A keresett $N_i(t)$ függvények helyett vezessünk be új $X_k(t)$ függvényeket a következő módon:

$$N_i(t) = \sum_r u_{ir} X_r(t). \tag{11}$$

Helyettesítsük be a (11) alakot a (6) differenciálegyenletbe. Behelyettesítés után vegyük figyelembe, hogy az u_{ir}-ekre fennáll a (9) összefüggés.

$$\sum_r u_{ir} \frac{dX_r}{dt} = \sum_k \sum_r A_{ik} u_{kr} X_r(t) = \sum_r k_r u_{ir} X_r(t),$$

azaz

$$\sum_r u_{ir} \left[\frac{dX_r}{dt} - k_r X_r(t) \right] = 0,$$

ami kielégül, ha

$$\frac{dX_r}{dt} = k_r X_r(t). \tag{12}$$

Leolvasható, hogy az $X_r(t)$ függvények olyan hipotetikus „kvázifajtákat" írnak le, amelyek nem mutálnak egymásba, hanem mindegyik egyedszáma a saját önálló k_r szaporodási rátájával növekszik:

$$X_r(t) = X_r(0) e^{k_r t}.$$

$X_r(t)$ ismeretében (11) segítségével meghatározhatók a keresett $N_i(t)$ függvények is.

$$N_i(t) = \sum_r u_{ir} X_r(0) e^{k_r t}.$$

A (8) egyenlet legnagyobb megoldását jelölje k_m, a neki megfelelő megoldásrendszert $u_{im} \equiv v_i$. (Feltételezzük tehát, hogy a (8) egyenlet legnagyobb valós gyöke egyszeres gyök.)

$$\sum A_{ik} v_k = k_m v_i, \tag{13}$$

és (10) értelmében

$$\sum_i v_i = 1. \tag{14}$$

Ekkor (12) így írható:

$$N_i(t) = e^{k_m t} \left[v_i X_m(0) + \sum_{r \neq m} u_{ir} X_r(0) e^{-(k_m - k_r)t} \right]. \tag{15}$$

Mivel $k_m > k_r$, a szögletes zárójelben szummajel után álló kifejezés idő múltával egyre kisebb lesz, egyszercsak teljesen elhanyagolhatóvá válik.

$$N_i(t) = v_i C e^{k_m t}, \text{ ha } t \text{ elég nagy.}$$

[$X_m(0) = C$ írtuk.] A mutációk figyelembevétele után az az érdekes eredmény adódott, hogy végül a populáció fajtái azonos szaporodási rátával gyarapodnak. A közös k_m szaporodási ráta a legeredményesebb kvázifajta szaporo-

dási rátájával, a (8) egyenlet legnagyobb gyökével egyezik meg! Hogy ezt jobban megértsük, fajtalétszámról térjünk át a fajta egész populációban számított koncentrációjára:

$$n_i(t) = \frac{N_i(t)}{N(t)} = \frac{N_i(t)}{\sum_j N_j(t)} . \tag{17}$$

Behelyettesítve a (15) megoldást kapjuk:

$$n_i(t) = \frac{v_i C e^{k_m t} + \sum_{r \neq m} u_{ir} X_r(0) e^{k_r t}}{\sum_j v_j C e^{k_m t} + \sum_j \sum_{s \neq m} u_{js} X_s(0) e^{k_s t}} ,$$

ami (14) figyelembevételével így írható:

$$n_i(t) = \frac{v_i + \sum_{r \neq m} e^{-(k_m - k_r)t} u_{ir} X_r(0) C^{-1}}{1 + \sum_j \sum_{s \neq m} e^{-(k_m - k_s)t} u_{is} X_s(0) C^{-1}} . \tag{18}$$

Mivel $k_m > k_r$, $k_m > k_s$, idővel visszaszorulnak az alacsonyabb szaporodási rátájú kvázifajok. $t \to \infty$ határesetben a populációban a fajták következő eloszlása állandósul:

$$n_i(\infty) = v_i . \tag{19}$$

Ezt nevezzük vad populációnak. A vad populáció eloszlását a (13) egyenlet megoldása adja, az kizárólag a környezet és az egyed kapcsolatát jellemző A_{ik} számoktól (azaz az S_i, H_i, $M_{i \leftarrow k}$ valószínűségektől) függ.

Ha már sikerült tájékozódnunk a fajták egy idő után beálló eloszlásáról, akkor a vad populáció összetételét közvetlenül is kiolvashatjuk a (4) egyenletből. $t \to \infty$ esetén $N_i \to v_i N$, $dN_i/dt \to k_m N_i = k_m N v_i$, így a (4) egyenlet $t \to \infty$ határesetben a következőbe megy át:

$$(k_m - Q_i S_i + H_i) v_i = \sum_{k \neq i} M_{i \leftarrow k} S_k v_k . \tag{20}$$

Jelölje v_m annak a kvázifajnak a koncentrációját, amelyhez $QS - H$ legnagyobb értéke tartozik. A (20) egyenlet $i = m$ esetén így írható fel:

$$(k_m - Q_m S_m + H_m) v_m = \sum_{k \neq m} M_{m \leftarrow k} S_k v_k . \tag{21}$$

$i \neq m$ esetén pedig:

$$(k_m - Q_i S_i + H_i) v_i = \sum_{k \neq i} M_{i \leftarrow k} S_k v_k . \tag{22}$$

A (21)—(22) egyenletrendszert perturbációszámítással oldjuk meg. Nulladik közelítésben (a mutáció befolyását elhanyagolva)

$$v_m^{(0)} = 1, \text{ a többi } v_i^{(0)} = 0 \tag{23}$$

adódna. (A domináns $Q_m S_m - H_m$ szaporodási rátájú fajta tenné ki az egész populációt.) Ekkor (21)-ből nulladik közelítésben

$$k_m^{(0)} = Q_m S_m - H_m . \tag{24}$$

(22)-ből számítsuk ki azt az $v_i^{(1)}$ értéket, amely elsőrendben függ az M mutációgyakoriságtól.

$$(k_m^{(0)} - Q_i S_i + H_i) v_i^{(1)} = \sum_{k \neq i} M_{i \to k} S_k v_k^{(0)} ,$$

tehát (23) és (24) felhasználásával

$$v_i^{(1)} = \frac{M_{i \leftarrow m} S_m}{(Q_m S_m - H_m) - (Q_i S_i - H_i)} , \tag{25}$$

Ennek birtokában a (21) egyenlet a perturbációszámítás második közelítésében adja meg a vad populáció szaporodási rátáját:

$$(k_m^{(2)} - Q_m S_m + H_m) v_m^{(0)} = \sum_{i \neq m} M_{m \leftarrow i} S_i v_i^{(1)},$$

azaz $M_{i \leftarrow j}$ mutációgyakoriságban másodrendig

$$k_m^{(2)} = (Q_m S_m - H_m) + \sum_{i \neq m} \frac{M_{m \leftarrow i} S_i M_{i \leftarrow m} S_m}{(Q_m S_m - H_m) - (Q_i S_i - H_i)} .$$

A mutánsok folyamatos megjelenését figyelmen kívül hagyva azt várnók, hogy (23) szerint a maximális $Q_m S_m - H_m$ szaporodási rátájú fajta egyeduralkodó a vad populációban. A pontosabb (25) képlet szerint mellette mindazon fajták jelen lesznek, amelyek egyszeri mutációval elérhetők a domináns fajtából. [A (20) algebrai egyenletet magasabb közelítésben megoldva kiadódik a domináns fajtából többszöri mutációval elérhető fajták gyakorisága.] A nem domináns fajtákat mindig eliminálja a természetes kiválasztás és mindig újratermeli a domináns fajta mutációja. Így a vad populáció néven ismert $(v_1, \ldots, v_f)$ fajtaspektrumot a természetes kiválasztás és a mutáció folyamatos összjátéka alakítja ki és stabilizálja. Ha hirtelen megváltozik a külső környezet, az új feltételek közt életképes fajta ebből a spektrumból választódik ki.

Sol Spiegelman a $Q\beta$ víruson tanulmányozta kísérletileg a szelekciót. Ez a nukleinsav természetes körülmények közt behatol a sejtekbe, és az ott talált tápanyagból a sejt enzimeinek felhasználásával építi fel önmaga mellett saját másolatát. Spiegelman azonban sejten kívül is tenyészteni tudta a $Q\beta$ vírust, ha azt kémcsőben levő, megfelelő tápanyagot és enzimet tartalmazó oldatba helyezte. Ilyen körülmények közt a $Q\beta$ vírus szabályos exponenciális szaporodásnak indult.

Spiegelman ezután mesterségesen megváltoztatta a vírus környezetét: a brómacuril nevű festéket tartalmazó oldatot oltotta be a vírusokkal. A festékmolekula több ponton rátapadt a vírust alkotó láncmolekulára, így meggátolta annak önmásolódását. Ennek hatására a vírus szaporodása gyakorlatilag leállt. De nemsokára, néhány óra múlva olyan mutánsok voltak meg-

figyelhetők a kémcsőben, amelyekre (kissé eltérő összetételük miatt) a festékmolekula nem tudott rátapadni, így ezek a mutánsok akadálytalanul szaporodhattak. A festékes oldatban a domináns vírusváltozat nem reprodukálódhatott, ott tehát nem keletkezhettek mutánsai sem. Csak az oldatba helyezett vad populációban csekély számban eleve jelenlevő festékrezisztens mutánsok indulhattak szaporodásnak [5].

A (19), (20), (25) képletek azt mutatják, hogy rögzített környezeti feltételek mellett (azaz S, H, M rögzített értékei esetén) milyen lesz a vad populáció v_i összetétele. Tételezzük fel, hogy a környezetben hirtelen változás következik be (lehűlés, szárazság vagy táplálékhiány). Megeshet, hogy a korábban legtökéletesebbnek számító m fajta életképtelennek bizonyul az új környezetben. Ha a populációban nem volnának reálisan jelen különböző változatok, a környezetváltozás a populáció kipusztulásához vezetne. A túlélést a változatok jelenléte biztosíthatja. Az új környezet megváltozott S', H', M' értékeket jelent. Az

$$N_i(0) = v_i N(0)$$

kezdőfeltételről induló populáció a megváltozott vesszős együtthatókat tartalmazó

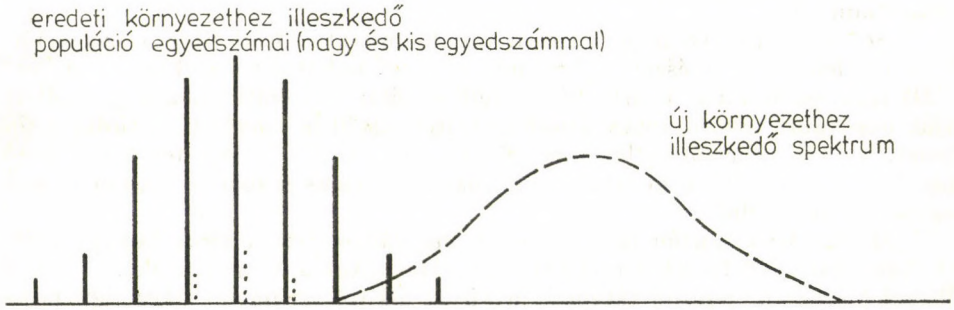
$$\frac{dN_i}{dt} = [Q_i' S_i' - H_i'] N_i(t) + \sum_{k \neq i} M_{i \leftarrow k}' S_k' N_k(t)$$

mozgástörvény szerint fejlődhet az új környezethez optimálisan illeszkedő populációig, amit a

$$(k_m' - Q_i' S_i' + H_i') n_i(\infty) = \sum_{k \neq i} M_{i \leftarrow k}' S_k' n_k(\infty)$$

egyenlet határoz meg. A gyors illeszkedés akkor következik be, ha az új optimális populáció fajtái (ha kis számban is) jelen voltak az előző vad populációban (illetve onnan néhány mutációs lépéssel elérhetők).

Az imént bemutatott tárgyalás statisztikus jellegű: várható gyakoriságértékeket szolgáltat. Az N tagú populációban csak azok a fajták egyedeinek előfordulása várható, amelyekre $N_i(t) \approx v_i N(t) > 1$. Ha kicsi a populáció N létszáma, csak a legnagyobb v_i értékekkel jellemzett fajták realizálódnak, a valóságos fajtaspektrum szűk. Belőle esetleg el sem érhető az új környezethez illeszkedő populáció (*28. ábra*). A környezet drasztikus változása végzetes



28. ábra. A tulajdonságspektrum

Fig. 28. The spectrum of the population

lehet egy kis populáció számára. Ha viszont népes a populáció, N nagy, akkor a (20) spektrum összes tagja realizálódik. (Ha v_i kicsi, de nem zérus, akkor $N_i = Nv_i > 1$, hacsak N elég nagy.) Van mód az új környezethez való gyors illeszkedésre. Így működik az evolúció, nem érvénytelenítve, de kiaknázva a Második Főtétel által kínált lehetőségeket.

6B. A mutáció póker

[A póker a Vadnyugat klasszikus kártyajátéka volt. A naiv kezdő pénze elúszott rajta, mások megkeresték a whiskyre valót. De mindenki elismeri a játék izgalmas voltát.]

Egy pakli magyar kártyával játszunk (makk-zöld-tök-vörös, hetestől ászig). Ha nincsen, bridgekártya is jó, de távolítsuk el belőle a 2—6. számozású lapokat. Keverés után minden játékos öt lapot kap. Mindenkinek az a célja, hogy a játék végére értékes lapkészletet gyűjtsön össze. A nevezetes lapegyüttesek a növekvő érték rendjében a következők:

Pár (két egyforma értékű lap, pl. két király)
Két pár
Drill (három egyforma értékű lap, pl. három hetes)
Full (egy pár és egy drill)
Póker (négy egyforma érték, pl. négy ász)
Kis flush (négy egymás utáni érték, ami csak 10-alsó-felső-király vagy alsó-felső-király-ász lehet, akármilyen vegyes színösszeállításban)
Nagy flush (öt egymás után következő érték, pl. hetestől alsóig, akármilyen vegyes színösszeállításban)
Royal flush (öt egymás után következő érték, mind egy színben, pl. tök kilencestől tök királyig).

A játék végén az egyes játékosok a szerint rendeződnek nyerési sorrendbe, hogy milyen lapegyüttesük van. Lényeges, hogy egyértelmű legyen a sorrend, soha ne alakuljon ki holtverseny. Egyforma nevű lapegyütteseknél az együttesben előforduló legnagyobb érték dönti el a sorrendet. (Pl. ha egyiknek tizes párja van, a másiknak király párja, akkor a király pár kerül előbbre.) Egyforma értékeknél a legnagyobb szín választja ki a nyertest. (Ha pl. két játékosnak van párja, és mind a kettő királyokból tevődik össze, az kerül előbbre helyezés szempontjából, akinél a piros király van.) Lényeges az is, hogy amíg a játék tart, senki ne lehessen egészen biztos a győzelmében. Még amikor piros ászban végződő royal flusht tart a kezében, akkor is megelőzhetik: ha piros ászos royal flush felmutatása után a következő játékosok egyike hetessel kezdődő royal flusht terít le, akkor (és csak akkor) megváltozik az értéksorrend általános szabálya, és a hetes royal flush lesz a nyertes. Nincs előre lefutott játék!

A játékosok a felsorolt nevezetes lapegyüttesek valamelyikének elérésére törekednek. Természetesen inkább törekednek a nagyobb szelekciós értékű nevezetes lapegyüttes kialakítására, de számolnak a reális lehetőségekkel. Osztáskor vaktában kapják a lapokat. De mód van mutációra. Értékes lapjaikat megtartják, de egy vagy két értéktelennek tűnő lapot eldobnak, helyette újat, újakat kérnek. Vagy beválik a véletlen lapmutáció, és növeli a kézben tartott kártya szelekciós értékét, vagy nem. Az evolúciós cél a játék közben is alakul . . .

A cserék után klasszikus pókerben a licitálás következik: ki mennyivel emeli a betett pénzt? Akinek jó a lapegyüttese, emeli a tétet, a többinek követnie

kell. Akinek gyenge lap jutott, feladja a játékot, veszni hagyja a kezdetben betett pénzét. A dörzsölt játékosok blöffölni próbálnak: keveset érő lappal is merészen licitálnak, hogy a többiek megijedve feladják a játékot. A blöffölő reméli: ha mindenki visszalép, a végén meg sem kell mutatnia a lapját, nem derül ki annak értéktelen volta.

Ha több játékos maradt játékban, és már egyik sem emeli a tétet, kiterítik lapjaikat, sorban egymás után. Akié a magasabb értékű lapkonfiguráció, azé lesz a teljes kassza, az összes játékos tétje.

A vesztes azt hiszi, hogy a következő játékban majd ő nyer. Újra játszik a volt vesztes is, a volt nyertes is. Egyeseknek lassan elfogy a pénzük, az a többi játékoshoz kerül. Kiszelektálódnak a játékból. (Nem kötelező öngyilkosnak lenniök.) Ha nem unják meg előbb, addig megy a játék, míg minden pénz egy játékoshoz nem vándorol.

[A póker a természetes kiválasztás modelljének tekinthető. A kiosztott lap a véletlenszerű génállomány. A játékosok pénze modellezi a mindenkori egyedszámot. A cserék a véletlen mutációt jelentik. Jó lapon senki nem változtat: azt a „szelekciós nyomás" stabilizálja. A nevezetes lapegyüttesek a génállományból kibontakozó előnyös tulajdonságokat jelentik. Mindnek más a szelekciós értéke. De a szelekciónak nincs abszolút célja. A relatíven jobb győz a gyengébb fölött: ő nyeri a pénzt, az a genotípus növeli az egyedszámot. Ha valakinek elfogynak a forintjai, kihal az általa képviselt genotípus. Kiszelektálódik a játékból.

A pókerszabályok csekély módosításával a játékot még hasonlóbbá tehetjük a természetben végbemenő természetes kiválasztáshoz.]

A mutációs pókerben mindenki 10 forinttal (egyenlő egyedszámmal) kezdi a játékot. Minden játékos egy forintot betesz a kasszába, ezért öt lapot kap. Utána körbe mennek: egymás után mindenki eldobhat egy lapot, egy újabb forint betétele után húzhat helyette másikat. Egyszer valaki megszólal: „Elég." Ő nem mutál tovább. Akik akarják, tovább mutálhatják lapjaikat, de egy lap eldobása után minden egyes új lap húzásáért már három forintot kell betenni a kasszába. A végén mindenki terít. A sorrendet a pókernél felsorolt nevezetes lapegyüttesek alapján határozzák meg. A nyertes az egész kasszát elviszi.

[Ebben a játékban nyilvánvaló lesz, hogy a sok forinttal rendelkező, nagy egyedszámú játékos tud kockáztatni: egymás után sok mutációt végigcsinálni. A mutánsok fogyasztják a forintokat, de ha a kezében levő lapállomány elmutál egy magas értékű nevezetes együttesig, ő nyeri el a kasszában levő pénzt. Végül is az ő „egyedszáma" növekszik fel.]

7A. Versengés és sodródás

Ha egy populáció minden egyede csak tökéletes másolatokat készítene önmagáról, esetleg optimálisan megfelelnének egy eleve megfogalmazott követelménynek, de képtelenek volnának illeszkedni a változó környezethez. Az illeszkedés és evolúció feltételezi a másolási hibákat.

Az egyed egyik tulajdonságának mérőszámát jelölje x. (Hány newton erős? Mekkora az *IQ*-ja? Milyen sexy a szépségverseny zsürijének pontszáma szerint?) Az x tulajdonság gyakoriságeloszlása a populációban $g(x)$, amelyre

$$\int g(x)\,dx = 1\,.$$

Így az x tulajdonság középértéke, ill. szórása

$$\bar{x} = \int x\, g(x)\, dx, \qquad (\Delta x)^2 = \int (x - \bar{x})^2 g(x)\, dx.$$

Tételezzük fel, hogy egy környezetváltozás során az x tulajdonság fontossá válik: az átlagosnál nagyobb x értéknek szelekciós előnye van (nagyobb túlélés, gyorsabb szaporodás). Ezt R. Fischer [19] nyomán egy $\sigma(x)$ szelekciós tényezővel vesszük figyelembe:

$$\sigma(x) = 1 + s\,(x - \bar{x}).$$

Pozitív s szelekciós érték esetén

$\sigma(x) > 1$, amikor $x > \bar{x}$ (szelekciós előny)
$\sigma(x) < 1$, amikor $x < \bar{x}$ (szelekciós hátrány).

Ha az n-ik generáció tulajdonságspektruma $g_n(x)$, akkor ez a szelekció eredményeképp az $n + 1$-ik generációra $g_{n+1}(x)$-re módosul:

$$g_{n+1}(x) = \sigma(x)\, g_n(x).$$

Az új generációban az x tulajdonság középértékben nagyobb lesz, mint az előzőben volt, hiszen ez szelekciós előnyt jelent:

$$\begin{aligned} x_{n+1} &= \int x\, g_{n+1}(x)\, dx = \int x[1 + s\,(x - \bar{x})]\, g_n(x)\, dx = \\ &= \int x\, g_n(x) dx + s \int x(x - \bar{x})\, g_n(x)\, dx = \\ &= x_n + s \int (x - \bar{x})^2 g_n(x)\, dx + s\bar{x} \int (x - \bar{x})\, g_n(x)\, dx, \end{aligned}$$

tehát

$$x_{n+1} = \bar{x}_n + s\,(\Delta x_n)^2.$$

A fontossá vált tulajdonság átlagának növekedése annál gyorsabb, minél nagyobb a tulajdonság szórása a populációban. Túlságosan kicsiny hibaszázalék a (25) egyenlet szerint túlságosan éles spektrumot eredményez. Ez lassítja (sőt bénítja) a populáció illeszkedését a változó körülményekhez. Túlságosan nagy hibagyakoriság viszont elmossa az egyszer már kibontakozott értékes genetikai információt, még mielőtt az elszaporodik.

A fent mondottakból természetesen nem következik, hogy a genom egy-egy betűjének nagy hűségű továbbadása szükségszerűen fékezi az evolúciót. Egy genom álljon R betűből. Ha minden betű ε hibával másolódik, akkor a reprodukció jósági tényezője

$$Q = (1 - \varepsilon)^R.$$

Az információ utódokra való átvihetősége megköveteli, hogy Q legalábbis

$$Q \geq e^{-1} = 37\%$$

legyen. (Itt $e = 2{,}178\ldots$ a természetes logaritmus alapszáma.) Ez az egyenlőtlenség megszorítást jelent a genetikai információ mennyiségére. Kis ε esetén a $\ln(1 - \varepsilon) \approx -\varepsilon$ közelítést használhatjuk. Így Q képletéből

$$R = \frac{\ln Q}{\ln (1 - \varepsilon)} \approx - \frac{\ln Q}{\varepsilon} = \frac{\ln Q^{-1}}{\varepsilon} \leq \frac{\ln e}{\varepsilon},$$

tehát

$$R \leq \varepsilon^{-1}.$$

Ha egy élőlény a genetikai információ másolását betűnként ε hibával képes megvalósítani, akkor genetikai információ tartalmát kb. $R_{max} = \varepsilon^{-1}$ betűig növelheti. Ezt meg is teszi az evolúció során, hiszen a nagyobb genetikai információ sokoldalúbb funkciók ellátását teszi lehetővé, ami szelekciós előnyt jelent számára. EIGEN [18] ezt az összefüggést a következő adatokkal illusztrálja:

Feltételezett enzimmentes önmásoló RNS (valószínűleg a tRNS őse)	$\varepsilon \approx 0{,}05$	$R \approx 20$
Egyszálú vírus-RNS (fágban másolódik replikázenzim segítségével)	$\varepsilon \approx 5 \cdot 10^{-4}$	$R \approx 2000$
Prokarióta DNS (másolását hibakereső exonukleáz pontosítja)	$\varepsilon \approx 10^{-6}$	$R \approx 10^6$
Eukarióta DNS	$\varepsilon \approx 10^{-9}$	$R \approx 10^9$

A tapasztalat tehát azt mutatja, hogy a természet az evolúció során fokozza az információátadás betűnkénti hűségét, mert ez tartalmasabb genom kialakulását, tehát sokoldalúbb illeszkedést tesz lehetővé, aminek szelekciós értéke van. [Ekkor természetesen $Q = (1 - \varepsilon)^R$ is optimális, 100%-ot el nem érő értéket vesz fel.]

A DNS-betűk pontosabb másolása esetén megengedhető a genom bővítése. Ennek egyik lehetséges mechanizmusát BRIAN HARTLEY figyelte meg. Baktériumokat helyezett extrém táplálkozási viszonyok közé (alig emészthető tápoldatba). Azt tapasztalta, hogy szelekciós előnyhöz jutott és elszaporodott az a példány, ameylnél a DNS-másolást egyszer nem követte a sejt osztódása. Az ilyen kromoszómaduplázódás normális körülmények között hátrányos, mert a megnövekedett kromoszómaállomány reprodukálása feleslegesen késlelteti az osztódást. Ezért a dupla kromoszómaállományú baktérium normális körülmények közt kiküszöbölődik. A kísérleti kényszerhelyzetben azonban előnyre tett szert ez a változat, hiszen benne két példányban, kétszeres termelékenységgel működhetett az a gén, amely a szokatlan táplálékot feldolgozni képes enzim termelését irányította. Ezért a dupla kromoszómaszámú baktérium szaporodott el a populációban. Az új baktériumtörzs többi génje is két példányban volt jelen. Egy másik gén-duplikátumban bekövetkezett mutáció viszont sem előnyt, sem hátrányt nem jelent, hiszen a normális enzimszükséglet fedezésére elegendő az egyik gén hibátlan működése. Ily módon a többi gén másodpéldánya felszabadult a szelekciós nyomás alól, annak mutációi neutrálissá váltak. Előállt a g e n e t i k a i s o d r ó d á s jelensége.

Korábban mindig feltételeztük, hogy a mutáció szelekciós értékkülönbséget hoz létre: a mutáns utódnak vagy nagyobb, vagy kisebb a szelekciós esélye. Arra következtettünk, hogy a kisebb szelekciós értékű genom csakhamar kiszelektálódik, a nagyobb szelekciós értékű genom pedig egyeduralkodó lesz a populációban. Ez az evolúció irányának egyértelműen előre determinált voltát jelentené. Elsőként MOTOO KIMURA [29, 30] hangoztatta, hogy

az előre determináltság nem szükségszerű. Lehetnek, sőt vannak közömbös mutációk, amelyek nem módosítanak az egyed szelekciós értékén.

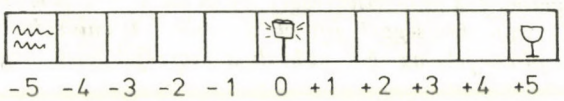
A szelekciós szempontból neutrális helyen bekövetkező mutációkra nem érvényes a „minden vagy semmi" alternatívája. A szelekció matematikai modelljét tárgyaló fejezetben a neutrális hely annak felelne meg, hogy a (8) egyenlet legnagyobb értékű α_m megoldása többszörös gyök. Az ilyen jelenség matematikai tárgyalására a determinisztikus differenciálegyenletnél alkalmasabb módszer a dobókocka, a rulett, a Monte Carlo módszerre beprogramozott számítógép. Vagyis a megfelelő szemléltető játékok.

Ha egy N egyedből álló populáció a neutrális hely szempontjából egységes, és fellép benne egy mutáns egyed, akkor ez a korábbival egyenértékű mutáns kipusztul (ez a gyakoribb) vagy egy átmeneti idő után a teljes populációra kiterjed és kiszorítja az eredeti változatot. (Ennek a valószínűsége kicsi, de véges érték.) A kiszorítás $N = 1$ esetén bizonyosan bekövetkezik. $N > 1$ esetén KIMURA számítógép-modellje szerint egy neutrális mutáció rögzülésének valószínűsége $1/N$-nel arányos. Tehát annál hamarabb következik be változás a populáció genomjának neutrális helyén, minél kisebb a populáció. Ha a mutációgyakoriság és a létszám állandó, akkor két elkülönült populáció genetikai információkészletének semleges szakaszán kialakult betűeltérések száma arányos lesz a populációk elkülönülése óta eltelt idővel. Ez a g e n e t i k a i ó r a az utóbbi időben nagy jelentőségű lett a fejlődéstörténet rekonstrukciójában.

Ha a génduplázódás neutrális szakaszt teremtett a genomban, akkor a szelekciós nyomástól mentes szakasz genetikai sodródása olyan megoldáshoz vezethet, amely eddig nem létező hasznos funkcióra (pl. új típusú enzim termelésére) képesítheti az egyedet. Ez már határozott szelekciós előnnyel járt, az addig szabadon sodródott szakasz megszűnik neutrális lenni. Új hasznos gén jön létre, amely fokozott szelekciós értéke miatt csakhamar elterjed, sőt egyeduralkodóvá válik a populációban. Látható ebből, hogy hosszú távon nemcsak az exponenciális darwini versengésnek, hanem a neutrális genetikai sodródásnak is lehet evolúciós szerepe.

7B. A részeg matróz

Válasszunk egy egydimenziós játékvilágot: egy sor egymás mellé rajzolt négyzetet (29. ábra). A középső négyzetre (az utcalámpához) elhelyezünk egy gombot. (Ő a részeg matróz.) Pénzzel sokszor dobunk egymás után. Ha egy dobásnál fej marad felül, a gomb egy négyzetnyit jobbra lép. Ha írás jön ki, egy négyzetnyit balra lép. (A pénzdobás véletlenje modellezi a részeg matróz kiszámíthatatlan tántorgását.) A matróz percenként lép egyet. Vajon N perc után milyen messzire kerül kiindulási helyétől?



29. ábra. A részeg matróz világa

Fig. 29. The world of the drunken sailor

A matematikában b o l y o n g á s néven számontartott játék a BROWN-*mozgást, a diffúziót modellezi, de felhasználható bármilyen neutrális véletlen által leírható folyamatsornak, pl. a genetikai sodródásnak a szemléltetésére is. Ha a jobbra és balra tett lépés egyformán valószínű, akkor várható, hogy a matróz mind messzebb kerül a kiindulási helytől, és minden olyan ponttól, ahová egyszer eljutott* [38].

Legyen a matróz útja az x-tengely, a lámpaoszlop a kezdőpont. Az egyes lépéseket jelentse $e_1, e_2, e_3, \ldots, e_N$ *mindegyik értéke* $+1$ *vagy* -1 *lehet. A matróz koordinátája N lépés után*

$$x = \sum_{i=1}^{N} e_i ,$$

ez egyaránt lehet pozitív vagy negatív. Négyzete feltétlenül pozitív:

$$x^2 = (\sum_i e_i)^2 = \Sigma e_i^2 + 2 \sum_{j\,i<} e_i e_j .$$

Itt $e_i^2 = (\pm 1)^2 = 1$. *Az* $e_i e_j$ *vegyes szorzatok értéke hol* $+1$, *hol* -1. *Rendszertelenül lépegetve ugyanannyi a* $+1$, *mint a* -1 *tag, ezért a vegyes szorzatok összege legtöbbször zérus. Így átlagosan*

$$\overline{x^2} = \sum_{i=1}^{N} 1 = N .$$

N lépés után

$$\sqrt{\overline{x^2}} = \sqrt{N}$$

eltávolodás várható a lámpaoszloptól. $N = 25$ *lépés megtétele után a matróz feltehetően* $\sqrt{25} = 5$ *lépés távolságra lesz a lámpaoszloptól.*]

A matrózjátékot érdekesebbé is tehetjük. A kiindulási lámpaoszloptól ($x = 0$) *öt lépésre balra van a tenger* ($x = -5$). *Ha odajut a matróz, beleesik és a hidegvíztől kijózanodik. A lámpaoszloptól öt lépésre jobbra van a kocsma* ($x = +5$). *Ha odajut a matróz, lehorgonyoz és grogot rendel. Fogadni is lehet, hogy a játékban a hideg tengervíz vagy a forró grog lesz-e a végállomás?*

[*A jobb-bal szimmetria miatt a két e s é l y egyenlő, de a t é n y mégis egyik vagy másik végállapot lesz. Szimmetrikus a kiindulás, véletlenen múlik, melyik csapda vár hősünkre.*]

Egy másik játékhelyzet: tíz matróz álldogál a kocsma előtt ($x = +4$), *egy lépésre a kocsmától* ($x = +5$). *Tántorogva elindulnak. Többségük a kocsmában köt ki, az van közelebb. Ha vaktában lépnek jobbra és balra, a tíz közül hány jut el a kijózanító fürdőig* ($x = -5$)?

[*A matróz az x koordinátájú helyről indul el.* $W(x)$ *jelöli annak valószínűségét, hogy végül is a tengerben* ($x = -n/2$ *koordinátájú nyelőben*) *köt ki. (Fenti játékpéldánkban* $n = 10$.) *A matróz lép egyet, vagy jobbra, vagy balra.* $1/2$ *valószínűséggel kerül az* $x - 1$ *koordinátájú helyre és onnan* $W(x - 1)$ *valószínűséggel ér a tengerbe.* $1/2$ *valószínűséggel kerül az* $x + 1$ *koordinátájú helyre, és onnan* $W(x + 1)$ *valószínűséggel jut el a vízbe. A valószínűségszámításban a v a g y szónak a plusz jel, az é s szónak a szorzójel felel meg, tehát*

$$W(x) = \frac{1}{2} \cdot W(x - 1) + \frac{1}{2} \cdot W(x + 1) .$$

$W(x)$ a szomszédos helyekhez tartozó $W(x-1)$ és $W(x+1)$ számtani közepe, tehát $W(x)$ lineáris függvény. Így a $W(-n/2), \ldots W(x-1), W(x), W(x+1), \ldots W(n/2)$ valószínűségek számtani sorozatot alkotnak. A sorozat kezdőtagja $\ldots W(-n/2) = 1$. (Ha beesett a tengerbe, végleg kijózanodik.) A sorozat végtagja $W(n/2) = 0$. (A kocsmából biztos nem jut ki a tengerig.) Ez lehetővé teszi a számtani sorozat rekonstruálását.

$$W(n/2) = W(-n/2) + nd,$$

innen a tagok különbsége $d = -n^{-1}$, tehát a sorozat általános tagja

$$W(x) = W(-n/2) + (x + n/2)\,d = \frac{1}{2} - \frac{x}{n}.$$

Ha a matróz a kocsmaajtóban állt ($x = n/2 - 1$), akkor n^{-1} a valószínűsége, hogy a tengerbe esik. Példánkban $n = 10$. Így tíz matróz közül egytől várható, hogy a tengerbe pottyan, kilenc a kocsmaajtón lép be.

A játék a genetikai sodródást is példázza. Ha a populáció N létszáma állandósult és ha egy mutáns kihalása ugyanolyan valószínű, mint a megduplázódás, akkor minden N-ik mutáció terjed el és válik egyeduralkodóvá a populációban, a többi semleges mutáns kihal. A genetikai óra járását modellünkben a mutációgyakoriság és a populációlétszám viszonya határozza meg.]

8A. Az evolúció történetisége

Az élet olyan jelenség, mint a népdal. Költője nincs, csak fejlődéstörténete. Vagy ahogy FRANCOIS JACOB [27] megfogalmazta: „A genetikai programba beíródik minden megtörtént reprodukció tanulsága. A program sikerek halmozódása, hiszen a balsikerek nyoma kitörlődik. A genetikai információ ezért olyan, mint a szerző nélküli szöveg, amelyet a korrektorok több milliárd éven át ellenőriztek, finomítottak, tökéletesítettek szakadatlanul, lassanként kiküszöbölve a tökéletlenségeket. A lemásolandó és alkalmazandó szöveget szüntelenül átdolgozza az idő. Ezt az időt a másolások száma, a nemzedékek száma méri, amelyek a messze ősöktől elvezettek a mai élőlényekig." Az a szalag, amelyre sikereit feljegyezte a földi élet: a DNS-molekula. Az enzimek asszisztenciája által segített DNS az a struktúra, amely önreprodukcióra képes, így a Földön valóra váltotta az evolúció lehetőségét. A DNS-másolás minden véletlen hibája, amely hátrányos volt az önreprodukció szempontjából, amely fékezte a reprodukció ütemét, kiküszöbölődött a természetes kiválogatódás által. A DNS olyan megváltozásai, amelyek előnyösek voltak az önreprodukció meggyorsítása szempontjából, átöröklődtek és elterjedtek. „Az élet a DNS molekula vállalkozása, hogy minél több új DNS molekulát hozzon létre." Ez kicsit nagyképűbb megfogalmazása a népi ízű bölcsességnek, hogy „a tyúk a tojás vállalkozása új tojások létrehozására".

Hogy konkrétan hogyan, milyen kémiai vegyületek önszerveződésén keresztül álltak össze a fiatal Földön az első önreprodukáló struktúrák, milyen sorrendben követhették egymást a kémiai és biológiai evolúció konkrét lépései, az az experimentális és elméleti kémia, biokémia, genetika izgalmas kutatási területe. Szükséges, hogy megértsük: itt a Földön milyen időrendben,

milyen speciális lépéseken keresztül alakult ki és fejlődött mai komplexitásáig az egyetlen földi Élet. Ezzel a kérdéssel ebben az írásban nem foglalkozunk, inkább a speciális materiális realizációtól, a konkrét történeti eseményektől függetlenül próbáljuk megvizsgálni az elvontan értelmezett élet (minden elképzelhető élet közös) vonásait. Megelégedtünk annak bizonyításával, hogy „egymás állapotát egyszerű kauzális törvények szerint befolyásoló építőelemekből önreprodukáló struktúra építhető fel" és hogy „önreprodukáló struktúrák populációja zajos környezetben evolúcióra képes".

Atomi folyamatok mennek végbe az élőlényekben is. A fizikusok és kémikusok minden egyes reakciót meg tudnak érteni és le tudnak írni. Nem az energia vándorútját nehéz követni. Értjük, hogy a fényből miként válik cukor, a cukorból pedig szaladás. Az igazi kihívást a kémiai és fizikai folyamatok egymásba kapcsolódó rendje képezi, az a lenyügöző organizáció, amelyet élőlénynek — magasabb szinten igazabbul: életnek, ökoszférának — mondunk. Az élet számára nélkülözhetetlen az elemi molekuláris folyamatok összjátékát irányító információ. Az elemi folyamatokban értékítéletet nem ismerő fizikai mozgástörvények működnek. Az ilyen vak események hatalmas sokaságát kell figyelemmel kísérnünk, hogy észrevegyük a biológiai információ kibontakozását a természetes kiválasztódás eredményeképpen. A spontán kifejlődött informált struktúrák teszik érdekessé és magasabbrendűen vonzóvá a biológiát. A biológus eme információ genezisét, működését és evolúcióját kutatja.

Az információ kialakulásának és gazdagodásának minden egyes lépését (a véletlen mutációt, a környezetéhez kevésbé illeszkedő élő egyed pusztulását) a fizikus is megérti. Az információtömeg együtt megfoghatatlan a számára, még komputerei sem képesek megbírkózni vele. Hiába tudjuk a folyamatokban főszereplő elektronok kvantummozgásának differenciálegyenletét, ha a kezdőfeltétel ilyen bonyolult. A Naprendszer óraművét büszkén feltáró fizikus visszariad egy cserebogár életútjának követésétől. A biológus viszont nem a mozgásegyenletek alkalmazásának új példáját látja, hanem hosszú történeti fejlődés pótolhatatlan eredményét tiszteli minden fajban.

A puding próbája, hogy megesszük. Akkor mondhatnók, hogy megértettük az életet, ha magunk is képesek lennénk egy élőlényt előállítani. E cél elérését többféle módon képzelhetjük el:

a) Van a tradicionális eljárás, amit évmilliók óta követünk.

b) Kiolvassuk egy biológiai eredetű DNS-molekula információtartalmát. Ezt a jelsorrendet követve laboratóriumban egy új DNS-t szintetizálunk, és azt lombikban megfelelő kémiai környezetbe helyezzük.

c) Egy óriási számítógépet építünk, amelynek memóriakapacitása túlszárnyalja az emberi agyét. Megkérjük, próbálkozások árán találjon olyan kémiai rendszert, amely szaporodni és fejlődni képes. Elektronikus képzeletében a gép felgyorsultan pergetheti végig az evolúciót. Ha közli a végeredményben kapott lény receptjét, megkísérelhetjük annak kémiai szintézisét.

d) Egy óriáslombikban összekeverünk jó csomó fotont, CH_4, NH_3, H_2O molekulát, azután türelmesen várunk néhány milliárd évet.

A válasz lényege a következő: hogy élőlényt hozzunk létre, arra az információtömegre kell hagyatkoznunk, amely a természetes földi evolúció során néhány milliárd év alatt kialakult — vagy egy másik esélyt kell adnunk, hogy a biológiai információ a próba-szerencse történeti folyamatában megszület-

hessen. A fizikus számára ez a történetiség szokatlan. „A baktérium azért működik akkora virtuozitással, mert ősei kétmilliárd éven át kísérleteztek a kémiával, és gondosan feljegyezték minden egyes siker receptjét. És ez az a pont, ahol szakadás keletkezik élő és élettelen világ között, biológia és fizika között. Az élettelen dolgok nem függnek az időtől. Az élők ellenben feloldozhatatlanul időhöz kötöttek. Az élők egyetlen struktúrája sem választható el a történelemtől [27]! Ez az idegen és ez a vonzó, ez a nehéz és ez a kihívó az életjelenségben a fizikus szemével. Ezért őrizte meg minden szakmai integrálódás közepette a biológia vitathatatlan önállóságát, és ezért vonza a fizikusok figyelmét (Nobel-díjasokét és egyetemi hallgatókét egyaránt).

Az Élet kialakulását és az evolúció általános törvényeit sokan egzakt egyenleteket, egyetemes érvényű elveket keresve kutatják. Lényeges és maradandó eredmények születtek a hetvenes években hazánkban és külföldön egyaránt. Ilja Prigogine [45] azt vizsgálta, hogy a termodinamikai egyensúlytól távollevő rendszerben molekuláris káoszból miként születhet téridőbeli struktúra. Szentágothai János [48] és Zimányi József [53] az idegrendszerben kutatják az organizációteremtő önszerveződést. Gánti Tibor [23, 24] a kémiai szerveződést, a legegyszerűbb élőlényeket reprezentáló kémiai rendszerek működését írta le egzakt egyenletekkel. Manfred Eigent [14, 17, 18] a genetikai információ elvesztésének, rögződésének és gyarapodásának szükséges feltételei izgatják. René Thom [50] a katasztrófaszerű változások matematikáját ragadta meg [52]. Csányi Vilmos [10, 11] a fejlettebb organizmusokra is kiterjedő figyelemmel a biológiai evolúció során kirajzolódó stratégia elveit fogalmazta meg, sőt annak következményeit kulturális-civilizációs jelenségekre általánosította. A kívülálló szemével nézve ezek nem vagylagos hipotézisek, hanem az élet kimerítetlenül gazdag jelenségeit k o m p l e m e n t e r oldalak felől megközelítő maradandó értékű felismerések.

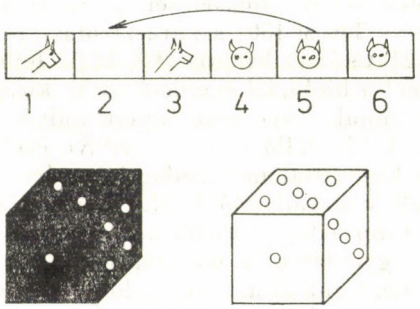
Bármennyire is több a fogódzkodó, bárhogyan is szaporodik az egyetemes elvek, az egzakt egyenletek, a matematikailag is megközelítő modellek száma, semmiképpen sem szabad azt várni, hogy az életet (ezt a földi életet) egyszer majd pontosan dedukáljuk első principiumokból. A történetiség az egyértelműen nem determinált események szerepének elfogadását is jelenti: éppen a helyi viszonyokhoz való folyamatos illeszkedés által a populációnak kis szigetre vagy nagy kontinensre bezártsága, a szűk és bő esztendőket adó meteorológiai lottó is befolyásolta az evolúció kanyargós útját, talán teljesen soha fel nem deríthető módon. A történeti esetlegességek szerepét bizonyítja a genom neutrális szakaszain bekövetkező és esetleg új hasznos gén kialakulásához vezető genetikai sodródás, amelynek kimenetele nem jósolható meg bizonyossággal.

Szép példa a földi biokémia optikai tisztasága. Hogy a földi fehérjék a két kémiai lehetőség közül az L-módosulatot realizálják (vagy hogy a DNS kanonikus csavarja jobbmenetű), annak oka lehet az elemi kvantumfizikai mozgástörvényeknél felfedezett parányi aszimmetriának megdöbbentő mértékű biológiai felerősítése [22, 28], vagy lehet a molekuláris káosz ősi jobb—bal szimmetriáját spontán és véglegesen megsértő genetikai véletlen. (Mint amikor tengerbe esik a részegen tántorgó matróz.)

8B. Dzsungeljáték

Egy dzsungelben párducok és farkasok élnek. Mindegyik ragadozó egyforma erős. A véges területen könyörtelen harc folyik az élettérért. Amelyik bestiának sikerül meglepnie a konkurens faj egy példányát, megöli azt, és saját leszármazottjának juttatja a megürült vadászterületet. Hogy melyik pillantja meg előbb a másikat, a vak véletlentől függ, mert kiegyenlítettek az erőviszonyok. Mi lesz a küzdelem kimenetele?

A dzsungelt hat szomszédos négyzet modellezi. A négyzeteket 1—6 sorszámmal látjuk el. A hat vadászmezőre három f e j állású forintost (farkasok) és három í r á s állású forintost (párducok) helyezünk el. Egyszerre dobunk egy fekete és fehér kockával. A fekete kockával kidobott sorszámú vadászmezőn levő állat lesz az áldozat, meghal és elveszti vadászterületét. A fehér kockával kidobott vadászmezőn levő állat lesz a győztes: a megürült vadászmezőre a győztes faj új példánya kerül. Tehát a fekete kockás mezőn a forintos azt az állást veszi fel, amelyet a fehér kockás forintos mutat. [Ha a két kocka ugyanazt a számot mutatja, a vad legfeljebb saját árnyékától ijedt meg, más nevezetes változás nem történik (30. ábra).]



30. ábra. A dzsungel
Fig. 30. The jungle

A játék eleinte bolyongásprobléma jellegzetességeit mutatja. Így megy addig, amíg mind a hat négyzetre ugyanolyan fajú állat nem kerül. Ettől kezdve a dobások nem változtatnak semmit: a faj véglegesen egyeduralkodóvá vált. Hogy melyik faj veszi birtokba az egész dzsungelt és melyik pusztul ki, az nem látható előre, hiszen a játékszabály és a kezdőállapot teljesen szimmetrikus. Ha tetszik, fogadások köthetők a játék kimenetelére vonatkozóan. (Hiszen lottóznak is sokan.)

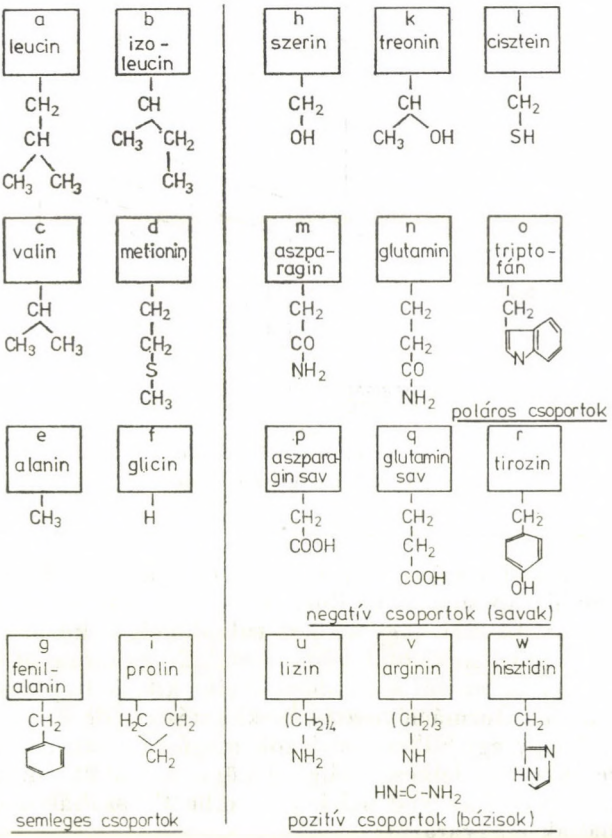
Ha már kiismertük az 50—50 százalékos esélyt, érdemes mást is kipróbálni: Ha egy öt farkassal benépesült dzsungetbe egyetlen párduc kerül, milyen esélye van a túlélésre, a hatalomátvételre? (És vajon mi lenne az esély, ha a dobókocka kicsit cinkelt volna és picit a párducnak kedvezne?)

[Ezt a statisztikus játékot is Eigen [15] *ajánlotta, hogy a Bolhás Kutya egyensúlyra vezető végkifejlete mellett a labilis állapotra, az Igen-Nem döntésre is mutasson példát. Számunkra a biológiai történet véletlen mozzanatait szemlélteti.]*

9A. A genetikai kód konzervativizmusa

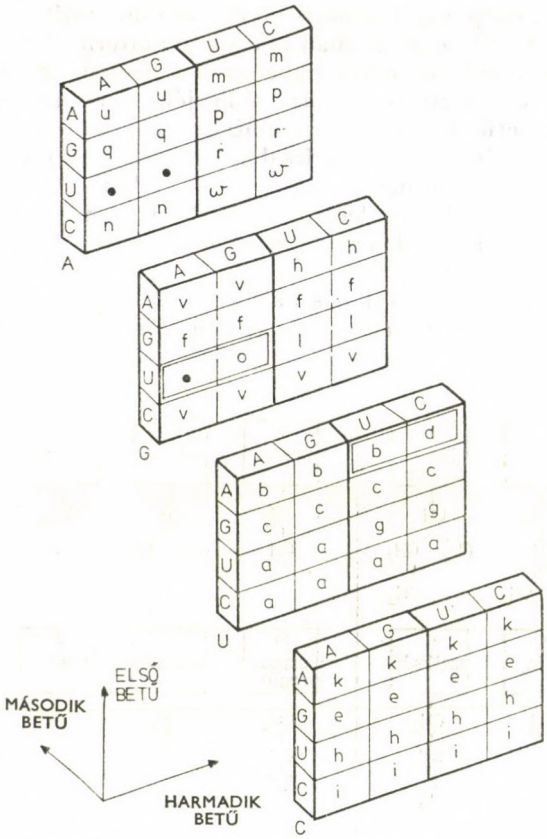
Az évmilliárdok alatt összegyűlt genetikai információ exkluzívan absztrakt nyelven van feljegyezve a nukleinsav-molekulába, amely a Morse-abchez vagy a számítógép saját bináris nyelvéhez hasonlítható. A nukleinsav mindössze négy betűvel, pontosabban kétszer két alternatívával dolgozik. (Rövid—erős: C, hosszú-erős: G, rövid—gyenge: U, hosszú—gyenge: A.) Ezt egy összetett fordító-mechanizmus teszi át a fehérjék köznapi nyelvére. A munkás köznyelv húszféle betűt használ (húsz aminosavat), ami már kicsit az emberi nyelvek abc-jére emlékeztet. Az átírásban kulcsszerep jut a transzfer-RNS molekuláknak, az első önmásoló szerkezetek feltételezett késő utódainak. A megfelelő tRNS specifikus leolvasófejével ismeri fel a nukleinsav-szöveg betűhármasait. A g e n e t i k a i k ó d által meghatározott módon adja meg annak aminosav-értelmezését.

Jelöljük a földi élet által használt 20 aminosavat az abc kisbetűivel, mégpedig úgy, hogy az egymáshoz közeli kémiai sajátságokat mutató amino-



31. ábra. **A húsz biológiai aminosav**
Fig. 31. **The twenty biologic amino acids**

savakat az abc közeli betűi, a lényegesen különböző aminosavakat viszont az abc távoli betűi jelzik (*31. ábra*). Ekkor a genetikai kódot a *32. ábra* foglalja össze.



32. ábra. A genetikai kód
Fig. 32. The genetic code

A genetikai kód eredete sok fejtörés tárgya volt. Senkinek sem sikerült hitelt érdemlő kapcsolatot találnia egy-egy nukleotid-hármas és a nekik megfelelő aminosav kémiai vagy fizikai tulajdonságai között. Az átírás feltűnően redundáns (a 64 nukleotid-hármas csak 20 aminosavat és egy génzáró pontot kódol). A redundanciát a híradástechnika kiterjedten használja a másolási hibákból adódó információvesztés csökkentésére, de az élet nem él ezzel a lehetőséggel. Ahogy egy villamosmérnök megfogalmazta: elemi információelméleti ismeretekkel rendelkező hallgató könnyen talált volna optimálisabb fordítókulcsot. A genetikai kód néhány szembeötlő szabályosságát különféle módokon próbálták magyarázni:

1. A betűhármas u t o l s ó betűjének csak az esetek felében van jelentésmódosító értelme. Ilyenkor is elég annyit tudni róla, hogy nagy (A és G)

vagy kicsi (U és C). Ezért CRICK [9] feltételezte, hogy a genetikai kód evolúciójának egyik szakaszában a betűhármas első két betűje hordott információt, a vessző szerepét játszó harmadik betű pedig e szerep megszűnése után is „lötyög". Kétbetűs szó $4^2 = 16$ alkotható, ami 16 aminosavnak a kódolását tette lehetővé. Az élet finomabb kémiai feladatok ellátása érdekében csak később kezdte növelni az aminosav-választékot 16 fölé. (A metionin, triptofán, tirozin, hisztidin aminosavakat viszonylag kevés betű kódolja a többihez képest. Ezeket hiába keressük meteoritokban és aminosavak abiogén szintézisét célzó laboratóriumi kísérletek termékei között. A nagyon régen kialakult ferredoxin-fehérjékben sem fordulnak elő. Az élet feltehetőleg később csatolta őket a felhasznált aminosav-választékhoz.)

2. A betűhármas k ö z é p s ő betűje döntően determinálja az aminosav jellegét. (A *32. ábra* egy tábláján az abc egymáshoz közeleső betűi, azaz egymáshoz kémiailag hasonló aminosavak találhatók.) Ezt EIGEN [18] úgy értelmezi, hogy eredetileg csak a k ö z é p s ő nukleotidnak volt informatív értelme. A két s z é l s ő nukleotid a leolvasás megkönnyítését szolgálta, a tRNS leolvasófejének biztos odaillesztését tette lehetővé. EIGEN szerint minden betűhármas „n a g y - N - k i c s i" szerkezet volt. (Nagy A-t vagy G-t, kicsi U-t vagy C-t, N az információt hordozó A, G, U, C bármelyikét jelentheti. A meteorokban leggyakrabban talált és az abiogén szintézisben legkönnyebben keletkező aminosavak mind ilyen képletűek.) Az ilyen betűhármas előnye, hogy a komplementer nukleinsav hasonló szerkezetű „nagy-N-kicsi" hármasokból épül fel. Ilyen hármasok esetén nyilvánvaló, hogy egy betűhármas hol kezdődik és hol végződik: a szélső betűk csak a szóelválasztó v e s s z ő szerepét játsszák. Az N által értelmezett négy aminosav-csoportból csak a későbbi evolúció során differenciálódtak specifikusan kiválasztott aminosavak.

3. Vitatkoznak azon, hogy melyik volt az első nukleotid-páros, amely a h o s s z ú és r ö v i d jeleket használó legprimitívebb Morse-kódot megvalósította. Az A (és U) sokkal könnyebben szintetizálódik abiogén körülmények közt, több lehetett belőle az őslevesben. Kézenfekvő feltevés, hogy őket tartalmazták a legősibb nukleinsavak. A feltevést támogatni látszik, hogy a kizárólag A-U betűkkel kódolt aminosavak ma szerteágazóbb tulajdonságúak, mint kizárólag G és C betűkkel kódoltak. Ha ez igaz, a nehezebben szintetizálódó, de a DNS kettős csavarjának hármas hidrogénkötéseivel nagyobb stabilitást biztosító G-C párok csak később kezdtek szerephez jutni. Az abc-bővülés kiaknázása azonban távolról sem fejeződött be. — Az evolúció dinamikájára hivatkozva EIGEN [18, 40] újabban kétségbevonja ezt a gondolatmenetet. Szerinte a G-C kötés nagyobb stabilitása olyan mértékben megemeli a másolás Q jósági tényezőjét, hogy primitív hibajavító technika mellett csak G-C felépítésű nukleinsavak nyúlhattak elég hosszúra, csak ezek hordozhattak számottevő információt. Így az első aminosavak a következők lehettek: glicin (GGC) és alanin (GCC), majd őket az aszparaginsav (GAC) és valin (GUC) követte. Mindegyikük könnyen szintetizálódik abiogén úton. (EIGEN szerint az utólagosan beiktatott A-C párok szándékos h i b a h e l y n e k tekinthetők, akárcsak a félvezetőtechnikában. Ezek a DNS kettőscsavarjának lokális m e g o l v a s z t á s á t é s l e o l v a s á s á t könnyítik meg.)

A röviden jelzett három szempont alapján megerősödik bennünk az a következtetés, hogy a genetikai kód mai alakja semmi szempontból nem optimális, az inkább egy történeti fejlődés közbeeső, de korántsem befejező

állomása a 2→ 4→ 16→ 64 aminosav-választék kialakításának útján. A következtetéssel szembenáll az az empirikus tény, hogy ma minden földi lény (mikróba, növény, állat) azonos genetikai kódot használ. Ebben látjuk a földi élet egységének legegzaktabb kifejeződését! (Ha igaznak is bizonyul BARREL [2] megfigyelése az UGA→o, AUA→d átírás megjelenéséről az emberi mitokondriumban, ez olyan kivétel, ami csak erősíti a szabályt. Ez esetben itt egzaktul érvényes volna az 1. pontban megfogalmazott „lötyögés", ami a genetikai kód történetisége mellett érvel. Lásd a *32. ábra* bekeretezett részeit!)

A genetikai kód mai alakjának (*32. ábra*) ezek szerint már a törzsfejlődés elágazása előtt (talán hárommilliárd esztendeje) léteznie kellett, és akkor az valamilyen okból megmerevedett. A genetikai kód tehát egy befagyott történelmi pillanatot rögzít, fennmaradt állókép a földi élettörténet hajnaláról. Izgató kihívás megvizsgálni: miről tudósít ez a kép, mi a benne rejlő üzenet? Ha a genetikai átírás ma is tiszteletet kiváltó komplexitását néhány százmillió év alatt elérte, vajon miért nem fejlődött tovább a közben eltelt évmilliárdok folyamán?

Hogy a ma élő komplex organizmusokban miért védett a genetikai kód, azt könnyen megértjük. Képzeljük el, hogy egy emberben az AGA→q szerint átíró tRNS molekula helyett AGA→a módra átíró tRNS jelenne meg. Ez azt jelentené, hogy az ember enzimeiben sok-sok helyen semleges leucin foglalná el a negatív glutaminsav helyét. A csere úgy deformálná az enzimeket, hogy a természetes kiválasztódás által kifinomított katalizáló hatékonyság legtöbbjüknél csökkenne vagy eltűnne, sőt hamis kémiai reakciót kezdenének katalizálni. Összegubancolódna az egész biokémiai hálózat, ami életképtelenné tenné az AGA→a átírással próbálkozó egyedet. Fejlett fajoknál azonnal kiküszöbölődik a genetikai kód bármilyen mutációja.

A genetikai kód változékonysága csak a komplex enzimrendszer kifejlődése előtt (a prokarióták megjelenése előtt) volt megengedett. Ebben a korai fejlődési szakaszban azonban helyi történeti esetlegességek több egyenértékű kódot kialakíthattak. Különböző törzsek talán különböző nukleotid-szöveggel jegyezhették fel ugyanannak a hatékony enzimnek a receptjét, ha tRNS molekuláik eltérő szerkezetében más nukleotid-nyelv, más genetikai kód realizálódott. Hiszen nem találunk meggyőző érveket a ma használt kód szelekciós előnye mellett más változatokkal szemben. Vajon a különböző kódváltozókkal dolgozó korai törzsekből miért nem fejlődtek ki olyan lények, amelyek most is eltérő kód szerint működnek? Mi magyarázza a mai kód egész Földre kiterjedő univerzalitását? Olyan provokatív kérdés ez, amelyre többen megpróbáltak felelni [37].

Egy lehetséges válasz az, hogy az első élőlény (az első önreprodukáló informált rendszer), méginkább pedig a fehérjegyártás irányítására (tehát genetikai kód alkalmazására) elsőként vállalkozó élőlény megjelenése olyan valószínűtlen esemény, annyira egyedi jelenség volt, hogy a szelekciós előnyt kihasználva az gyorsan elterjedt, sőt továbbfejlődött. Felélt minden táplálékot, hatékonyabbá vált minden potenciális trónkövetelőnél, mielőtt tőle függetlenül egy másik változat támadhatott volna. E szerint a hipotézis szerint minden földi növény és állat ugyanattól az őstől származik egyenes ágon, miként a bibliai hagyomány szerint minden ember Ádámtól.

Az Ádám-hipotézis az élet megjelenését, de legalábbis az evolúció első döntő lépéseit (a fehérjeszintézis irányítását) nagyon kis valószínűségűnek ítéli. Ennek ellentmond az a tapasztalat, hogy az óceánok kialakulása és az

első egysejtű algák megjelenése egyaránt 3,8 milliárd évvel ezelőtt történhetett [46], a két esemény közt meglepően rövid idő (legfeljebb 100 millió év) telhetett el. Vessük ezt össze az egysejtűektől és többsejtűek megjelenéséig eltelt két és fél milliárd esztendővel! Ha az Élet a Földön keletkezett, mégpedig szinte azonnal az óceán kialakulása után (erre következtet GÁNTI [23] is), akkor a genezist, az evolúció első lépéseit inkább ítéljük nagy valószínűségű eseménynek!

Az ellentmondást látva elevenítette fel CRICK és ORGEL [7, 44] a klaszszikus pánspermia-hipotézist. E szerint az élet mai formája nem a Földön bontakozott ki abiogén úton képződött molekulákból, hanem valahol másutt, esetleg hosszú-hosszú idő alatt. A más bolygón kifejlődött egysejtűek egy példánya (esetleg tenyészete) a világűrön át vetődött a Földre. A kedvező környezetben szaporodásnak és fejlődésnek indult, kialakította a mai flórát és faunát. De az evolúció Földön lejátszódott szakasza már olyan előrehaladott stádiumot képvisel, amelyben nem tűrhető a genetikai kód változékonysága. Így a genetikai kódra nehezedő szelekciós nyomás megmagyarázhatja annak földi univerzalitását.

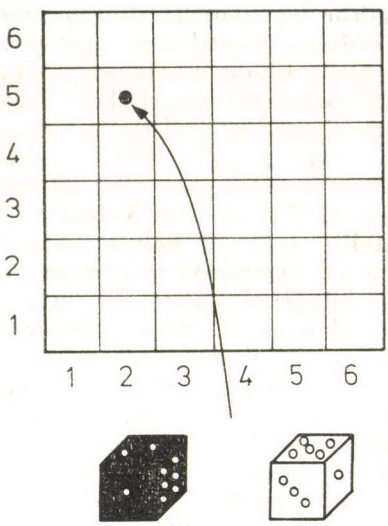
Amikor ARRHENIUS [1] felvetette a Galaktikában szétterjedő egységes élet gondolatát, a világűrbe fénynyomás által kisodort spórákra gondolt. Ma már tudjuk, hogy ezek védtelen genetikai anyagát szétroncsolná az ultraibolya és kozmikus sugárzás. Ezért CRICK és ORGEL szándékos pánspermiát tételezett fel. A Galaktikában elsőként kifejlődött értelmes lények hiába kerestek rádiókapcsolatot, egyedül találták magukat. Így pszichológiailag indíttatva érzik magukat, hogy élettel fertőzzék be a riasztóan steril Galaktikát. Űrszondák ezer és millió évek alatt tehetetlenségi mozgással eljuthatnak egyik bolygórendszertől a másikig. Kézenfekvő lehetett, hogy a viszontagságokra érzékeny intelligens lények helyett természetes mélyhűtést kibíró, mostoha környezethez is alkalmazkodó mikroorganizmusokat (pl. fotoszintézisre képes zöldalgákat) küldjenek szerteszét automatizált és sugárzás ellen árnyékolt kicsiny űrszondákban. Egyesek célbaértek, valamelyik bolygón szaporodásnak és fejlődésnek indultak, illeszkedve új hazájuk körülményeihez. A szándékos pánspermia hipotézise semmi természetellenes elemet nem tartalmaz. (A saját genetikai információ terjesztése etológiai kényszer. Ez talán a szülőbolygó életfájának genetikai alapinformációjára is vonatkoztatható.) A hipotézis nemzetközi figyelmet keltett (pl. LENINGER [33]). Fennáll azonban a bizonyíték keresésének kötelezettsége. Ez felveti a kérdést: a Földre juttatott egysejtűek az anyabolygón spontán kifejlődött lények természetes leszármazottai-e (egy ottani pocsolyából gyűjtötték őket), vagy pedig tudatosan tervezett és laboratóriumban szintetizált szerkezetek. Előbbi esetben a Földön található genetikai kód a távoli bolygón végbement evolúció megmerevedett állóképe, a kód redundanciája a félbeszakadt történetet tükrözné. Ez esetben a földi lények valamilyen módon őriznék a távoli szülőbolygó földrajzi viszonyainak emlékét (pl. a felhasznált nyomelemek nem a Földre, hanem a szülőhaza geológiai gyakoriságaira volnának jellemzőek [6, 7, 26, 44]). Utóbbi esetben viszont a genetikai kód, esetleg a genetikai információ is célirányos tervezésre utaló részleteket tartalmazhatna. (Például a genetikai információ vagy méginkább a mutációtól védett genetikai kód redundanciája szándékos, és valamilyen más üzenetet, akár intellektuális mondanivalót hordozhatna [35].) Ilyen utalás lehetne a J. E. LOVELOCK által posztulált, teljes földi ökoszisztémát magába foglaló GAIA céltudatos kibernetikai működése,

hiszen annak spontán kialakulása (egyedisége miatt) nem volna magyarázható túlélésért folytatott versengéssel.

Az eddigi kutatások a mai földi élet egységes molekuláris szerkezetében nem találtak meggyőző utalást a Földön kívüli eredetre vonatkozóan. A LOVELOCK által felsorolt jelenségekre is adható megfordított sorrendű oksági érvelés. Nem lehet kizárni az egységes kód történeti magyarázatának lehetőségét. Mégis érdemes lesz elgondolkozni: nem működhet valami szelekciós mechanizmus, amely az evolúció valamely fokán szükségszerűen befagyasztotta a genetikai kód fejlődését, és egyszersmind kiküszöbölte annak pluralitását?

9B. Túlélés játék

6×6 négyzetet tartalmazó „sakktábla" az élettér, amelyen küzdelem folyik a túlélésért. Két vagy három játékos játszhat, mindegyiknek megfelelő színű gombjai vannak. Körben egymás után dobnak egyszerre két kockával. A fehér és fekete kocka annak a négyzetnek a koordinátáit adja meg, amelyen történik valami (33. ábra).



33. ábra. Kétdimenziós világ
Fig. 33. World in two dimensions

S z ü l e t é s. Ha egy játékos üres négyzetet dob ki, oda saját gombot tehet.

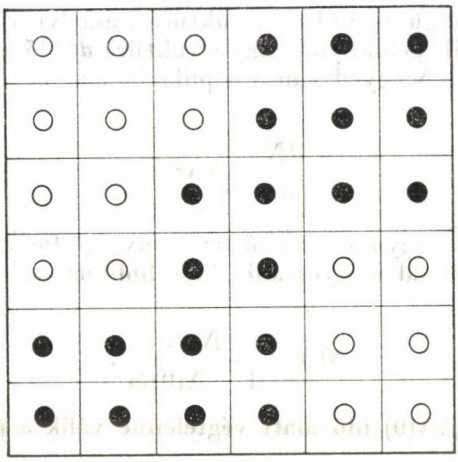
O s z t ó d á s. Ha egy játékos olyan négyzetet dob ki, amelyen saját gomb van, akkor újra dobhat mindaddig, amíg végre olyan négyzet nem jön ki, amelyiken nem saját gomb van. Ekkor a szabály többi pontja szerint jár el.

H a l á l. Ha valaki olyan mezőt dob ki, amelyen ellenséges gomb van, azt eltávolítja (az ellenség meghal), helyére saját gombot tesz.

T ú l é l é s. Ha négy egyszínű gomb négyzet alakú blokkot alkot, akkor túlélő pozícióban vannak. Az ellenfél hiába dobja ki valamelyikük koordinátáit, nem halhat meg. Természetesen hatos, nyolcas, kilences blokk is túlélő alakulat, hiszen ezek négyes blokkokra vezethetők vissza.

A játék végetér, ha a táblán minden gomb túlélő helyzetbe került. Az nyer, akinek legtöbb gombja van a táblán a játék végén.

[EIGEN [15] *ezt a játékot összetettebb játékszabályokkal vezette be, hogy a játékosok taktikázására is lehetőség nyíljon. Pl. ha saját gombom által elfoglalt négyzetet dobok ki, akkor nem újra kell dobnom, hanem magam választom ki, hova teszek egy új saját gombot. A teljesen körbekerített ellenséges gomb viszont meghal. Itt ezt a játékot nem szórakoztató hadijátéknak, hanem biológiai modellnek szántuk, amelynél a végül kialakuló gombeloszlás szépen mutatja a túlélő foltokat* (*34. ábra*, [38]).]



34. ábra. Túlélés
Fig. 34. Survival

10A. Szaporodási törvények

Tekintsünk egy olyan szituációt, amikor állandó ütemű külső energia- és nyersanyag-utánpótlás hatására egy meghatározott molekuláris struktúrának mindig újabb és újabb példányai jönnek létre. Ekkor a dt idő alatt születő struktúrák dN száma dt-vel arányos, de nem függ attól, hogy már hány (N) struktúra van jelen:

$$dN = k\,dt,$$

azaz szabatosabban

$$\frac{dN}{dt} = k. \tag{L1}$$

A differenciálegyenlet lineáris szaporodásra vezet (*35. ábra*):

$$N(t) = N(0) + kt. \tag{L2}$$

Vegyük szemügyre ezután egy önmásoló (osztódással szaporodó) struktúrát. Ennél egy egyed dt idő alatt $k\,dt$ másolatot készít önmagáról. Ha már N struktúra van jelen, ezek száma dt idő alatt $Nk\,dt$ értékkel növekszik.

$$\frac{dN}{dt} = kN. \tag{E1}$$

A differenciálegyenlet exponenciális szaporodásra vezet (*35b. ábra*):

$$N(t) = N(0)e^{kt}. \tag{E2}$$

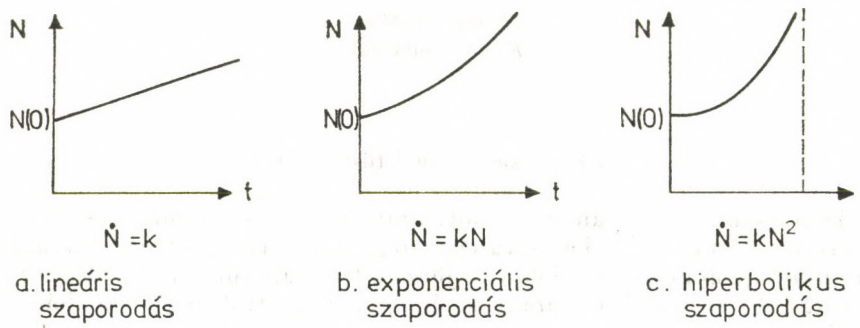
Képzeljünk el végül egy olyan struktúrát, amelynél a másolat készítését segítik a már elkészült példányok. Egy struktúra dt idő alatt $Nk\,dt$ számú új egyedet hoz létre. Ha N egyed van a populációban, ezek száma $N^2k\,dt$ értékkel nő:

$$\frac{dN}{dt} = kN^2. \tag{H1}$$

A populáció tagjainak egymást segítő tevékenysége folytán ez a differenciálegyenlet exponenciálisnál is gyorsabb, hiperbolikus szaporodást eredményez (*35c. ábra*):

$$N(t) = \frac{N(0)}{1 - N(0)kt}. \tag{H2}$$

Vegyük észre: $t = 1/kN(0)$ idő alatt végtelenné válik a populáció létszáma!



35. ábra. Szaporodási stratégiák
Fig. 35. Reproduction strategies

Az élővilágban általában exponenciális törvény érvényesül: új egyed születéséhez elengedhetetlen korábbi egyed jelenléte, hiszen a genetikai információt egy mintáról lehet lemásolni. Szexuális szaporodás esetén is állandónak tekinthető az anya szülési gyakorisága: a szaporodás ütemét nem a jelenlevő férfiak száma befolyásolja, hanem a terhesség és szoptatás időtartama, ill. a szexualitás évi ciklusa. Az emberi társadalom azonban javítani tud a megszülető gyermek életfeltételein (egészségügyi ellátás stb.), ezért egy nő utódlétrehozó (és életbentartó) képességét növeli a társadalom többi tagjának

munkája. Az évi százalékos népességszaporulat, azaz $(dN/dt):N$ nem az exponenciális törvényre jellemző állandó érték, hanem a történelem során egészen napjainkig nőtt. Az emberiség a társadalmi szerveződés folyamányaképpen gyorsabban szaporodott az exponenciálisnál. A Föld felszínének végessége éppen ezekben az években kezdi éreztetni korlátozó hatását: dN/dt még továbbra is növekszik, de az $N^{-1}\,dN/dt$ szaporodási ráta az ENSZ-statisztika szerint növekedésből fogyásba ment át. A népességgörbe konvexből konkávra váltott, az emberiség éppen a mi életünkben, az 1970-es években haladt át az inflexiós ponton. Észrevehetően jelentkezik a Föld-élettér véges volta! Ez az egyedülálló történelmi pillanat sok területen igényel szemléletváltozást.

Korlátlan létszámnövekedés az állat- és növényvilágban sem realizálható. Ha az élettér maximálisan N_m egyedet képes befogadni, akkor a még betölthető résznek egészhez való viszonya $(N_m - N) : N_m$. Egészítsük ki az (L1) lineáris szaporodási törvényt azzal, hogy az időegység alatt születő egyedek száma arányos az üres hányaddal:

$$\frac{dN}{dt} = k\,\frac{N_m - N}{N_m}\,. \tag{L3}$$

Ebből

$$N(t) = N(0)\exp\left[-\frac{kt}{N_m}\right] + N_m\left[1 - \exp\left[-\frac{kt}{N_m}\right]\right] \tag{L4}$$

következik. A létszámgörbe lineárisan indul, majd aszimptotikusan hozzásimul az élettér maximális teherbírását megadó N_m értékhez.

Ha az (E1) exponenciális törvényt egészítjük ki az üres hányadot figyelembe vevő faktorral,

$$\frac{dN}{dt} = kN\,\frac{N_m - N}{N_m}\,, \tag{E3}$$

hasonló aszimptotikus telítődést kapunk:

$$N(t) = N_m\left[1 + \left(\frac{N_m}{N(0)} - 1\right)e^{-kt}\right]^{-1}\,. \tag{E4}$$

Sok élő populációban működik ilyen szabályozás: az élettér telítődésével csökken a szaporodási kedv. De a létszámgörbe nem mindig ilyen sima. Egyes biológiai kísérletekben a telítődéshez közeledve erős oszcillációk léptek fel. Vannak olyan fajok is, ahol nem működik beprogramozott szabályozás. A populáció exponenciálisan túlszaporodik, elfogyasztja az élelmet, az éhhalál pedig kipusztítja a populáció nagy részét. A fogyasztók megcsappanásával regenerálódik az élelemtermelő környezet. Ebben újra szaporodásnak indul a populáció. Ez a magyarázata a periodikusan visszatérő sáskajárásos éveknek. Gyakran változó környezetben általában célravezetőbb az (E1) stratégia (rovarok), állandó környezetben viszont az (E3) stratégia (erdei fák).

Eddig egyetlen fajta számának alakulását követtük nyomon.

Tekintsünk két fajtát, amely (L1) lineáris törvény szerint szaporodik, egyikük k_1, másikuk k_2 szaporodási állandóval:

$$\frac{dN_1}{dt} = k_1, \qquad \frac{dN_2}{dt} = k_2. \tag{L5}$$

Vezessük be a két fajta koncentrációját az együttes populációban:

$$\frac{dn_1}{dt} = \frac{N_1}{N_1 + N_2}, \qquad \frac{dn_2}{dt} = \frac{N_2}{N_1 + N_2}. \tag{L6}$$

Egyszerű behelyettesítéssel a szaporodási törvények következő alakját kapjuk:

$$n_1 = \frac{k_1 - (k_1 + k_2)\, n_1}{N_1 + N_2}, \qquad n_2 = \frac{k_2 - (k_1 + k_2)\, n_2}{N_1 + N_2}. \tag{L7}$$

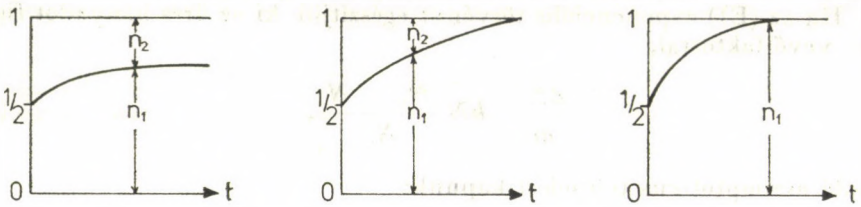
$n_1 + n_2 = 1$, tehát mindkét koncentrációnak állandó telítésbe kell befutnia, ahol az időderivált zérus. $t \to \infty$ határesetre

$$0 = k_1 - (k_1 + k_2)\, n_1(\infty), \quad 0 = k_2 - (k_1 + k_2)\, n_2(\infty).$$

Leolvasható innen, hogy a populációban (a kezdőaránytól független) állandó fajtaarány áll be:

$$n_1(\infty) : n_2(\infty) = k_1 : k_2. \tag{L8}$$

A két változat szaporodási állandójuk arányában osztozik az élettéren (*36a. ábra*).



36. ábra. Versengés
Fig. 36. Competition

Tekintsünk ezután két fajtát, amelyek az (E1) exponenciális törvényt követik, különböző szaporodási együtthatóval:

$$\frac{dN_1}{dt} = k_1 N_1, \qquad \frac{dN_2}{dt} = k_2 N_2, \qquad k_1 > k_2. \tag{E5}$$

Ha (L6) szerint most is áttérünk a koncentrációkra,

$$\frac{1}{n_1}\frac{dn_1}{dt} = k_1 - k(t)\, n_1, \qquad \frac{1}{n_2}\frac{dn_2}{dt} = k_2 - k(t)\, n_2. \tag{E6}$$

Itt

$$k(t) = k_1 n_1 + k_2 n_2 \tag{E7}$$

a súlyozott szaporodási együttható:

$$k_1 n_1 > k(t) > k_2 n_2.$$

(E6)-ból leolvasható, hogy dn_1/dt pozitív, dn_2/dt negatív. A nagyobb k_1 szaporodási együtthatójú fajta részaránya nő a populációban, a kisebb együtthatójú fajtáé fogy. Az egész életteret végül az a fajta foglalja el, amelyiknél nagyobb a szaporodási együttható (*36b. ábra*):

$$n_1(\infty) = 1, \; n_2(\infty) = 0, \text{ ha } k_1 > k_2. \tag{E8}$$

Tekintsük végül a két fajtát, amely a (H1) hiperbolikus szaporodási törvényt követi, eltérő szaporodási állandóval. Az egyed dt idő alatt bekövetkező szaporodásának valószínűsége arányos lesz az egyedet tartalmazó fajta koncentrációjával, ezért a koncentrációk változásának törvényét most így írjuk fel:

$$\frac{1}{n_1}\frac{dn_1}{dt} = k_1 n_1 - k(t), \qquad \frac{1}{n_2}\frac{dn_2}{dt} = k_2 n_2 - k(t). \tag{H5}$$

A koncentrációk összege egy: $n_1 + n_2 = 1$, tehát

$$\frac{dn_1}{dt} + \frac{dn_2}{dt} = 0, \tag{H6}$$

innen kapható $k(t)$ jelentése:

$$k(t) = k_1 n_1^2 + k_2 n_2^2. \tag{H7}$$

Tehát $k(t)$ most a $k_1 n_1$ és $k_2 n_2$ kifejezések n_1 és n_2 koncentrációkkal súlyozott középértékét jelenti. (H5) és (H7) megegyeznek az exponenciális eset (E6), (E7) egyenleteivel, csak most $k_i n_i$ foglalja el az exponenciális eset k_i együtthatójának helyét. Látnivaló (H5)-ből, hogy most annak a fajtának növekszik a koncentrációja, amelyik kn szorzata nagyobb a kn-ek (H7) középértékénél. Azé fog csökkenni, amelyik kn szorzata kisebb a (H7) középértéknél. A nagyobb kN által jellemzett fajta idővel egyeduralkodó lesz, a kisebb kN-nel rendelkező fajta elenyészik.

$$n_1(\infty) = 1, \; n_2(\infty) = 0, \text{ ha } k_1 N_1 > k_2 N_2. \tag{H8}$$

Természetesen egyenlő létszámú indítás esetén, amikor $N_1(0) = N_2(0)$, a nagyobbik szaporodási állandójú változat győz, akárcsak az exponenciális esetben (*36c. ábra*).

Mi történik, ha az egyensúly kialakulása után mutációval megjelenik egy tökéletesebb organizmus, minden eddiginél nagyobb k_0 szaporodási képességgel?

Az (L1) lineáris törvény esetén az új fajta szaporodni kezd, végül (L8) szellemében megtörténik az élettér újrafelosztása:

$$n_0(\infty) : n_1(\infty) : n_2(\infty) = k_0 : k_1 : k_2 . \qquad \text{(L9)}$$

Legnagyobb területet most a magas k_0 értékű szuperváltozat hasít ki magának.

Az (E1) exponenciális törvény esetében (E8)-nak megfelelően egy idő után a legnagyobb k_0 szaporodási képességgel rendelkező fajta foglalja el az egész életteret, függetlenül a kezdeti egyedszámtól:

$$n_1 = n_2 = 0, \; n_0 = 1, \text{ ha } k_0 > k_1 > k_2. \qquad \text{(E9)}$$

A (H1) hiperbolikus szaporodás esetén annak a fajtának a koncentrációja nő a populációban, amelynek $k_i N_i$ szorzata a legnagyobb. Mivel a k_0 szupermutánsnak csak egyetlen ($N_0 = 1$) vagy nagyon kevés példánya van jelen, számára a $k_0 N_0$ szorzat kisebb, mint a korábban uralomra jutott (ugyan kisebb k_1 képességű, de nagy $k_1 N_1$ szorzattal rendelkező) változat. Ezért n_0 csökkenni fog. Visszaáll az előbbi végállapot:

$$n_1 = 1, \; n_2 = n_0 = 0, \text{ mert } k_1 N_1 > k_0 N_0, \text{ noha } k_0 > k_1 . \qquad \text{(H9)}$$

A kölcsönös segítség (cross feeding) az uralkodó fajtát végleges előnyhöz juttatja a kisszámban felbukkanó tehetségesebb trónkövetelőkkel szemben. Az egyszer kialakult dominancia stabil, a hiperbolikus szaporodás — a tranziens kezdőszakasztól eltekintve — leblokkolja az evolúció lehetőségét.

Természetesen egyszerű matematikai modellekből nem szabad messzemenő következtetéseket levonni. EIGEN [14] azonban érdekes gondolatot vetett fel: a hiperbolikus szaporodás konformista konzervativizmusa esetleg magyarázatot kínál a genetikai kód megmerevedésére és univerzalitására!

10B. Stratégiajáték

Két különböző színű kockával 6×6 „sakktáblán" bemutathatók a különböző szaporodási stratégiák. (Akinek van rulettje, inkább azt használja dobókocka helyett, és 36×36 méretű táblán játsszon.) A játékosok különböző színű gombokkal játszanak. A játékos négyféle stratégia közül az egyiket követi.

Lineáris stratégia: ha a kidobott négyzet üres, arra a játékos saját gombját teszi (ősnemzés).

Exponenciális stratégia: a kidobott négyzetre akkor tehet gombot, ha a négy szomszédos négyzet valamelyikén már van saját gomb (osztódás). Ha idegen gomb van a kidobott négyzeten, az meghal. (Az exponenciális gomb nagyobb szelekciós értékű, mint a lineáris gomb.)

Hiperbolikus stratégia esetén a kidobott négyzetre és annak egy szomszédjára két gombot tehet a játékos, ha a kidobott négyzeten még nincs saját gombja, de a nyolc szomszédos négyzeten legalább két saját gomb van (szex). Ha idegen gomb van a kidobott négyzeten vagy azon, ahová saját második gombját teszi, az idegen meghal.

Univerzális stratégia. Ha üres négyzetet dob ki a játékos, amelynek nyolc szomszédján még nincs saját gomb, akkor oda egy gombot tesz. Ha üres vagy idegen által elfoglalt négyzetet dob ki, amelynek nyolc szomszédos négyzetén n saját gomb van, akkor gombot tesz a kidobott négyzetre, ezen kívül a szomszédos négyzetekre is n saját gombot tehet. Természetesen legfeljebb nyolc saját szomszéd létezhet.

[A játék kezdetén (élettelen világban) csak ősnemzéssel indulhatunk. Később EIGEN [15] *ajánlata szerint az exponenciális stratégiára érdemes áttérni a nagyobb szelekciós érték miatt. A hiperbolikus stratégia csak kellő magas népsűrűség esetén kifizetődő, ott viszont ez vezet leggyorsabb szaporodásra. Ha a játékszabály olyan, hogy a játékos döntésétől függ, mikor tér át magasabb stratégiára, akkor ez a játék a szaporodási stratégiák biológiai evolúcióját is szemlélteti. Lényegében ugyanez figyelhető meg a körülményekhez alkalmazkodó univerzális stratégiában is: a játék előrehaladtával spontán egyre magasabb rendű stratégiák kerülnek alkalmazásra. Különösen tanulságos, ha a játékos felrajzolja gomblétszáma alakulását a játék folyamán. (E célból először egyedül játszhat.) Kirajzolódik az alkalmazott stratégiára jellemző görbealak és végül az élettér telítődésének szaporodást mérséklő hatása.]*

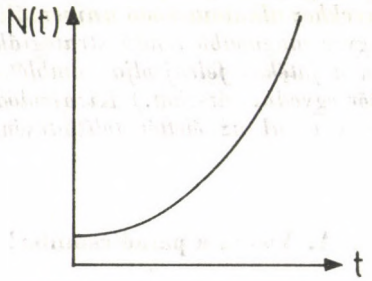
11A. Vissza a paradicsomba!

A $Q\beta$ vírussal már találkoztunk. Ennek genetikai információját 3600 betű (nukleotid) tartalmú nukleinsav-szöveg hordozza. Benne van rögzítve mindaz, amire a vírusnak szüksége van: a megtámadott sejt falát feloldó vegyület és a nukleinsav-láncot nukleotid-elemekből összekapcsoló replikáz-enzim szintézisének receptje stb. Sejtbeli segédlettel a vírus kb. 30 perc alatt képes egy másolat elkészítésére.

SPIEGELMAN [47] a következő kísérletsorozatot végezte el kedvencével, a $Q\beta$ vírus hőérzékeny (temperatúra-szenzitív) *ts1* törzsével: kémcsőbe negyed cm^3 tápoldatot tett. (Ebben energiaszolgáltató cukor, a vírus felépítéséhez szükséges nukleotid-építőelemek és replikáz-enzim volt feloldva.) Az erőlevesbe 0,2 μg $Q\beta$ nukleinsavat tett, amely ott (sejten kívül, *in vitro*) szaporodni kezdett, hiszen minden szükségeset készen talált. SPIEGELMAN 20 perc múlva 0,02 cm^3-t kivett az oldatból és azt 0,25 cm^3 friss tápoldatba oltotta. Ezt 15-ször megismételte. Így fokozott szelekciós előnyt biztosított a vírus gyorsabban reprodukáló változatainak. Megfigyelte, hogy a tenyészet már a negyedik átoltás után elvesztette sejtfertőző képességét. Érthető: ha véletlen másolási hiba folytán kiesik a sejtfaloldó vegyület receptjének egyikmásik betűje, a vírust nem éri hátrány a tápoldatban, sőt szelekciós előnyhöz jut: a rövidebb nukleinsav-szál hamarabb lemásolódik.

SPIEGELMAN ezután fokozta a szelekciós nyomást: a kísérlet következő szakaszában 15-ször egymásután már 15 percenként vett 0,02 cm^3 mintát, amit 0,25 cm^3 friss tápoldatba csöppentett. Ezután 15 alkalommal 10 percre, majd ugyanennyiszer 7 percre, sőt 15-ször 5 percre csökkentette az időt. A 75 átoltás drasztikus változást idézett elő a víruspopulációban. A 3600 betűs nukleinsav 550 betűre zsugorodott, önreprodukciós sebessége két és félszeresére nőtt. (A másolási sebességet radioaktív ^{32}P beépülésével mérte.) Később 180 betűre sikerült redukálni a reprodukálódó nukleinsav-szalag hosszát. Ez a mini-nukleinsav már nemcsak sejtfaloldó, de enzimtermelő képességét is elvesztette. A tápoldat paradicsomi körülményei közt a molekula (véletlen hibák, gyűrűkiesések formájában) kidobott minden nélkülözhető információt, hogy minimálisra kurtítsa a másolandó szöveget. Ily módon SPIEGELMAN egy olyan molekulát reprodukált, amilyen a Föld abiogén eredetű tápanyagot (cukrot, vak fehérjéket) bőven tartalmazó óceánjában az elsők közt valósíthatta meg az önreprodukciót.

Érdekes a mini-nukleinsav paradicsomi viszonyok közt végbemenő szaporodásának görbéje. Először exponenciálisan emelkedett, amit tápanyagbőség esetén elvárunk az önmásoló struktúráktól: dN/dt arányos N-nel, ahol N jelöli a nukleinsav-molekulák pillanatnyi számát (*37. ábra*). Később azonban



37. ábra. Vírusok szaporodása
Fig. 37. Multiplication of the virus

a görbe egyenessé vált. Érthető, miért. A másolás lebonyolításához szükséges volt a replikáz segítsége. Amíg kevés nukleinsav volt, addig a tápoldatba helyezett replikáz győzte a munkát. De a nukleinsav-molekulák elszaporodásával a replikáz-molekulák váltak a szaporodás ütemét megszabó legszűkebb keresztmetszetté. A mini-nukleinsav nem tudott replikáz-fehérjét szintetizálni, így a replikáz-molekulák száma állandó volt. E molekuláknál sorbaálltak a másolásra váró nukleinsav-molekulák, és a változatlan számú replikáz dolgozott, ahogy csak tudott. Munkájuk üteme szabta meg a szaporodás állandósult sebességét.

A megfigyelés tanulsága: a replikációhoz kell nukleinsav-minta, és kell az összekapcsolást végző fehérje. dN/dt tehát N mellett F-től is függ, ahol F a fehérjemolekulák száma.

11B. Rókák és nyulak

Ismét egy 6×6 sakktábla a modellvilág, amelyen z ö l d káposzta nő, barna vagy s á r g a nyulak és v ö r ö s rókák élnek. A játék kezdetén egy csomó zöld gombot (káposztát), néhány sárga gombot (nyulat) és vörös gombot (rókát) helyezünk a mezőre. Egy négyzetre csak egy gomb kerülhet. Ezután két különböző színű kockával dobunk sokszor egymás után. Minden egyes dobás alkalmával megkeressük azt a négyzetet, amelynek koordinátáit a két kocka mutatja. Ezen a négyzeten végrehajtjuk a játékszabály által megkívánt változtatást:

Ha a kidobott négyzet üres, rajta káposzta nő (lineáris stratégia). Zöld gombot teszünk oda.

Ha a kidobott négyzeten káposzta van, és a négy szomszédos mező egyikén sincs nyúl, a káposzta marad. A zöld gombot a helyén hagyjuk.

Ha a kidobott négyzeten káposzta van, és valamelyik szomszédos négyzeten nyúl van, akkor a nyúl megeszi a káposztát és szaporodik (exponenciális stratégia). Ilyenkor a zöld gomb helyére sárga kerül.

Ha a kidobott négyzeten nyúl van és az egyik szomszédos mezőn róka van, a róka megeszi a nyulat és szaporodik (exponenciális stratégia). Ilyenkor a sárga gomb helyére vöröset teszünk.

Ha a kidobott négyzeten nyúl van, nincs szomszédos róka, de van szomszédos káposzta, akkor a nyúl legel és életben marad. A sárga gombot helyén hagyjuk.

Ha a kidobott mezőn nyúl van, és nincs sem róka, sem káposzta a szomszédban, a nyúl éhenhal. A sárga gombot levesszük.

Ha a kidobott mezőn róka van, és van a szomszédos mezőn nyúl, a róka életben marad. A vörös gombot helyén hagyjuk.

Ha a kidobott mezőn róka van, és nincs nyúl a szomszédban, a róka éhenhal. A vörös gombot eltávolítjuk.

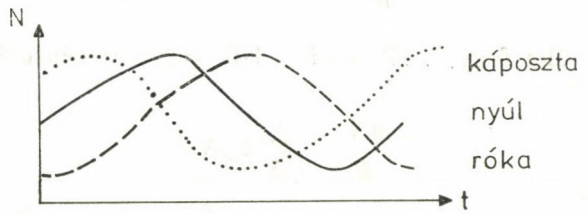
[Érdemes jegyezni a káposzták, nyulak, rókák számának alakulását az idő folyamán. Ha ezeket a számokat x, y, z jelzi, akkor a fenti szabályokat a következő differenciálegyenletekkel írhatjuk le:

$$\frac{dx}{dt} = a - bxy\,,$$

$$\frac{dy}{dt} = bxy - cyz\,,$$

$$\frac{dz}{dt} = cyz - dz\,.$$

Ez VOLTERRA*-típusú egyenletrendszer, amelynek oszcilláló megoldásai vannak (38. ábra). Ugyanezt mutatja a játék alakulása. Ha nyúl kerül a káposztaföldre, gyorsan szaporodni kezd. Fogy a káposzta, lassul a szaporodás, de sok a nyúl. A gazdag vadászterületen megjelennek a rókák. Eszik a nyulakat, közülük egye-*



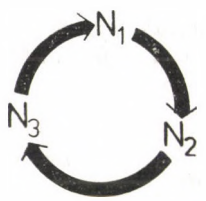
38. ábra. A VOLTERRA-példa
Fig. 38. The VOLTERRA problem

sek éhen is halnak. Fogy a nyúl, sok már a róka. Most a rókák kezdenek éhenhalni. A kevés nyúl miatt kizöldül a káposztaföld, ami a nyulak szaporodásának kedvez. És így tovább, újabb ciklusokban. Természetesen a kocka forgandósága miatt megeshet, hogy egyszercsak teljesen kipusztulnak a nyulak. Megszakad a lánc, mert nyúl csak nyúlból, róka csak nyúlból és rókából támadhat. Zöld káposzta borítja be az egész földet. Minél kisebb a mező, annál könnyebben bekövetkezhet ilyen végzetes ingadozás. Ez az instabil viselkedés is a történeti véletlenek szerepét illusztrálja.]

12A. A hiperciklus

A biokémiai reakciók rendszerében a vegyületek sorozatba rendeződnek: az egyik vegyület jelenléte feltétele a következő származék kialakulásának, miközben természetesen a környezet tápanyagai is felhasználódnak. Ha a sorozat ciklussá zárul, akkor az utolsó termék gondoskodik a sorozatkezdő vegyület újratermeléséről. Legismertebb példa erre a citrátciklus.

Jelölje az egyes vegyületek molekuláinak számát N_1, N_2 és N_3. Ekkor pl. egy háromtagú ciklus differenciálegyenlet-rendszere (*39. ábra*):



39. ábra. Reakció ciklus
Fig. 39. Reaction cycle

$$\frac{dN_1}{dt} = S_1 N_3 - H_1 N_1 ,$$

$$\frac{dN_2}{dt} = S_2 N_1 - H_2 N_2 , \qquad \text{(A)}$$

$$\frac{dN_3}{dt} = S_3 N_2 - H_3 N_3 .$$

Itt az i-ik vegyület fogy, belőle az $i + 1$-ik vegyület képződik. Az egyenletrendszer most is

$$\frac{dN_i}{dt} = \sum_{k=1}^{3} A_{ik} N_k \qquad \text{(B)}$$

alakba fogható össze, ahol az A_{ik} az S_i és H_k együtthatókból kapható meg. Hogy a differenciálegyenlet-rendszer megoldásához eljussunk, ismét írjuk fel a következő algebrai egyenletrendszert:

$$\sum_k A_{ik} u_k = k u_i .$$

Ennek akkor van $u \not\equiv 0$ megoldása, ha

$$\text{Determináns } (A_{ik} - k\,\delta_{ik}) = \begin{vmatrix} -H_1 - k & 0 & S_1 \\ S_2 & -H_2 - k & 0 \\ 0 & S_3 & -H_3 - k \end{vmatrix} = 0 ,$$

azaz

$$S_1S_2S_3 - (H_1 + k)(H_2 + k)(H_3 + k) = 0\,. \qquad \text{(C)}$$

Ennek a harmadfokú egyenletnek a gyökei legyenek $k_1 > k_2 > k_3$. A k_r gyökhöz tartozó megoldást jelölje u_{1r}, u_{2r}, u_{3r}, azaz

$$\sum_k A_{ik}u_{kr} = k_r u_{ir}\,. \qquad \text{(D)}$$

Az u_{ir} számokat felhasználva $N_i(t)$ helyett vezessük be az $X_r(t)$ függvényeket:

$$N_i(t) = \sum u_{ir}X_r(t)\,. \qquad \text{(E)}$$

Ezt helyettesítsük a (B) differenciálegyenletbe:

$$\sum u_{ir}\frac{dX_r}{dt} = \sum_k \sum_r A_{ik}u_{kr}X_r\,,$$

azaz (D) felhasználásával:

$$\sum_r u_{ir}\left[\frac{dX_r}{dt} - k_rX_r\right] = 0\,,$$

ami kielégül, ha

$$\frac{dX_r}{dt} = k_rX_r\,,$$

azaz

$$X_r(t) = X_r(0)e^{k_rt}\,.$$

Ezt (E)-ben felhasználva

$$N_i(t) = \sum_r u_{ir}X_r(0)e^{k_rt}\,.$$

vagy mivel $k_1 > k_2 > k_3$,

$$N_i(t) = e^{k_1t}\,[u_{i1}X_1(0) + u_{i2}X_2(0)\,e^{-(k_1-k_2)t} + u_{i3}X_3(0)\,e^{-(k_1-k_3)t}]\,.$$

Elég hosszú idő elteltével a szögletes zárójel második és harmadik tagja elhanyagolhatóvá válik, így marad

$$N_i(t) = u_{i1}X_1(0)\,e^{k_1t},$$

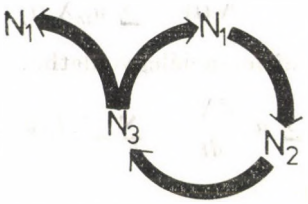
ha t elég nagy. A ciklus minden tagjának mennyisége azonos törvény szerint változik. Exponenciális függvény írja le a körben részt vevő teljes molekulaszám változását is:

$$N(t) = N_1(t) + N_2(t) + N_3(t) \sim e^{k_1t}, \qquad \text{(E)}$$

ha t elég nagy. Legyen pl. $H_1 = H_2 = H_3$ és $S_1 = S_2 = S_3$, akkor a (C) egyenlet

$$S^3 - (H + k)^3 = 0$$

alakot ölt, amelynek legnagyobb megoldása $k_1 = S - H$. Ha a ciklus minden egyes lépése egyszerű kémiai reakció, akkor N_2 azt kapja, amivel N_1 fogy. A Második Főtétel szerint veszteség is fellép, ezért $H_1 N_1 > S_2 N_1$. Viszont $H > S$ esetén $k_1 < 0$, azaz a ciklusban szereplő vegyületek száma fogy. Önfenntartó, sőt termékszaporító ciklus feltétele, hogy az termékduplázó lépéseket is tartalmazzon [23, 24] (*40. ábra*), ekkor a ciklus végén pl. $S_3 \approx 2H_2$ lehet, ami $k_1 > 0$ miatt növekedést eredményez. Egy másik lehetőség, hogy a katalizátorok is termelődnek a ciklusban, amelyek elősegítik a következő termék létrejöttét.



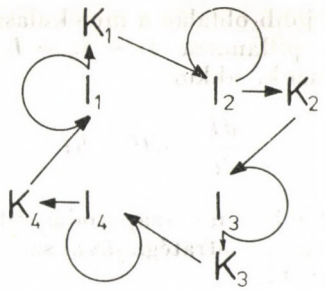
40. ábra. Szaporodó ciklus
Fig. 40. Multiplicating cycle

A biológiai organizmusok földi reprodukciója a nukleinsavak enzimfehérjék által katalizált önmásolásán alapul, az enzimfehérjék viszont a nukleinsavban levő recept leolvasása alapján szintetizálódnak. Az ilyen reakciósorozatot EIGEN hiperciklusnak nevezi (lásd még: [40]).

A különböző típusú információhordozó molekulák számát jelölje I_i. Az információhordozó önmásolással szaporodik, de mint az előző fejezetben tárgyalt SPIEGELMAN-kísérlet is mutatta, I_i növekedésének sebessége az önmásolást katalizáló molekulák K_i számától is függ:

$$\begin{aligned} \frac{dI_1}{dt} &= s_1 I_1 K_1 - h_1 I_1 , \\ \frac{dI_2}{dt} &= s_2 I_2 K_2 - h_2 I_2 , \\ \frac{dI_3}{dt} &= s_3 I_3 K_3 - h_3 I_3 , \\ \frac{dI_4}{dt} &= s_4 I_4 K_4 - h_4 I_4 . \end{aligned} \qquad \text{(F)}$$

(Jobb oldalon a második tag az információhordozók termodinamikai szétesését veszi figyelembe.) A K_i katalizátort a sorozat előző I_{i-1} információhordozója termeli (*41. ábra*). A katalizátorok természetesen maguktól el is bomlanak.



41. ábra. Hiperciklus
Fig. 41. Hypercycle

$$\frac{dK_1}{dt} = -H_1K_1 + S_1I_4\,,$$

$$\frac{dK_2}{dt} = -H_2K_2 + S_2I_1\,,$$

$$\frac{dK_3}{dt} = -H_3K_3 + S_3I_2\,, \qquad \text{(G)}$$

$$\frac{dK_4}{dt} = -H_4K_4 + S_4I_3\,.$$

A katalizátorok kisebbek, mint az információhordozók, így szintézisük gyorsabb folyamat, $S_i \gg s_j$. Így a (G) egyenletrendszer sebesebben bekövetkező fejleményeket ír le, mint az (F) egyenletrendszer. A $K_i(t)$ függvények beállnak az $I_i(t)$ információhordozók mindenkori mennyiségéhez, ezért $dK_i/dt \approx 0$. Most (G)-ből kiolvasható a K_i katalizátorok egyensúlyi koncentrációja:

$$K_i(t) \approx (S_i/H_i)I_{i-1}\,. \qquad \text{(H)}$$

Ezt (F)-be helyettesítve a következő differenciálegyenlet rendszert kapjuk:

$$\frac{dI_1}{dt} = \sigma_1I_4I_1 - h_1I_1\,,$$

$$\frac{dI_2}{dt} = \sigma_2I_1I_2 - h_2I_2\,,$$

$$\frac{dI_3}{dt} = \sigma_3I_2I_3 - h_3I_3\,, \qquad \text{(I)}$$

$$\frac{dI_4}{dt} = \sigma_4I_3I_4 - h_4I_4\,.$$

Itt $\sigma_i = s_i S_i / H_i$ jelöli. (I) jobb oldalán a molekulaszámban másodrendű tagok is szerepelnek! Ha egy pillanatra $I_1 = I_2 = I_3 = I_4$, $\sigma_1 = \sigma_2 = \sigma_3 = \sigma_4$, $h_1 = h_2 = h_3 = h_4$ képzelnénk, akkor

$$\frac{dI}{dt} = \sigma I^2 - hI$$

adódna, ami a hiperbolikus szaporodás differenciálegyenlete. A reakciociklus exponenciális stratégiájával szemben a hiperciklus hiperbolikus stratégiát követ!

A hiperciklus hiperbolikus stratégiájának több nevezetes matematikai következménye van. Említsünk meg egyet. Tételezzük fel, hogy két nukleinsav-darab egymástól függetlenül szaporodik önmásolással, de ehhez még nem vesz igénybe tervszerűen előállított (informált) fehérjéket. Differenciálegyenleteik (E6)-ból kiolvashatók:

$$\frac{1}{n_1}\frac{dn_1}{dt} = k_1 - k(t)\,, \qquad \frac{1}{n_2}\frac{dn_2}{dt} = k_2 - k(t)\,, \tag{J}$$

ahol a koncentrációkra

$$n_1(t) + n_2(t) = 1 \tag{K}$$

áll fenn mindig. Ehhez

$$\frac{dn_1}{dt} + \frac{dn_2}{dt} = 0 \tag{M}$$

teljesülése szükséges, aminek feltétele

$$k(t) = k_1 n_1(t) + k_2 n_2(t). \tag{N}$$

Ha $k_1 > k_2$, akkor $k_1 \geq k(t) \geq k_2$, így (J) folytán az n_2 koncentrációjú vírus csakhamar eliminálódik a populációból, a végállapotban csak egy típus marad. (E8) szerint

$$n_1(\infty) = 1, \quad n_2(\infty) = 0\,. \tag{O}$$

A „minden vagy semmi" típusú exponenciális versengés nem teszi lehetővé egymás mellett két különböző gén fennmaradását, esetleges későbbi egymáshoz kapcsolódását. Tételezzük fel ezekután két együttműködő nukleinsavat! Az első termeli a sajátmaga önmásolását katalizáló enzimet, ezért hiperbolikus szaporodási törvényt követ, ezenkívül termel egy olyan enzimet is, amit a másik nukleinsav fel tud használni. És megfordítva. Szaporodásukat a (H6) differenciálegyenletekből kapjuk, ha azokat kiegészítjük a kölcsönös segítséget leíró taggal:

$$\frac{1}{n_1}\frac{dn_1}{dt} = k_1 n_1 + c_1 n_2 - k(t)\,,$$

$$\frac{1}{n_2}\frac{dn_2}{dt} = k_2 n_2 + c_2 n_1 - k(t)\,. \tag{P}$$

Illusztráció kedvéért a k_1, k_2, c_1, c_2 szorzókat válasszuk meg speciálisan:

$$\frac{1}{n_1}\frac{dn_1}{dt} = n_1 + n_2 - k(t)\,,$$

$$\frac{1}{n_2}\frac{dn_2}{dt} = (1 - 2b)n_2 + (1 + b)n_1 - k(t)\,. \qquad \text{(Q)}$$

A (K) egyenletből (M) következik. Ez teljesül, ha

$$k(t) = n_1^2 + (1 - 2b)n_2^2 + (2 + b)n_1 n_2\,,$$

ami (K) figyelembevételével így írható:

$$k = 1 + bn_2(n_1 - 2n_2)\,.$$

Helyettesítsük ezt (Q)-ba, majd (K) felhasználásával küszöböljük ki n_2-t.

$$\frac{dn_1}{dt} = -3bn_1\left(1 - n_1\right)\left(n_1 - \frac{2}{3}\right),$$

ugyanúgy

$$\frac{dn_2}{dt} = -3bn_2\left(1 - n_2\right)\left(n_2 - \frac{1}{3}\right).$$

Látható, hogy $dn_1/dt > 0$, ha $0 < n_1 < 2/3$; és $dn_1/dt < 0$, ha $2/3 < n_1 < 1$, végül $dn_1/dt = 0$, ha $n_1 = 2/3$, tehát $n_1(t) \to 2/3$ aszimptotikusan. A két egymást segítő nukleinsav-változat közt példánkban

$$n_1(\infty) = \frac{2}{3}\,, \qquad n_2(\infty) = \frac{1}{3}$$

egyensúlyi koncentráció áll be: tartósan egymás mellett maradnak. Ez a közös túlélés akár azt is lehetővé teszi, hogy két gén egyetlen lánccá kapcsolódjon össze. EIGEN az (F—H) egyenletekkel leírt hiperciklusban lát lehetőséget a többgénes nukleinsav-lánc kialakulására.

12B. Információ játék

Írjunk le egy szöveget szóköz nélkül:

AZÉLETJÁTÉK

Jelöljünk meg egy vagy akár több evolúciós célt, pl. a következő azonos betűszámú információkat:

NAGYVERSENY *vagy* AMOZGÓANYAG

A játékszabály szerint egy generáció alatt egy szövegből szülessen $n + 1$ másolat, ahol n a kérdéses szöveg szelekciós értéke: azon betűk száma, amelyek már megegyeznek a célmondat megfelelő betűjével. (Pl. a kiindulási mondat szelekciós értéke

n = 1, mert első betűje azonos a második célmondat első betűjével. Mindig az a célmondat veendő figyelembe, amelyik jobban hasonlít a másolás alatt levő szövegre.) De a másolatok nem tökéletesek, mindig előírt hibaszázalékkal készüljenek (akár mi gyártjuk őket ceruzával, akár a számítógép). A mondatok generációról generációra szaporodnak, de egy mondat élettartama mindössze 5 generáció. Felgyorsul azon mutánsok szaporodása, amelyek beleteláltak valamelyik célmondat több betűjébe, így a legtöbb szöveg egyik vagy másik cél felé konvergál. Egy-két tucat generáció után felbukkan az egyik célmondat a párhuzamos szövegmásolatok közt, végül pedig egyeduralkodóvá válik.

[*A játékot* EIGEN *ajánlotta számítógépes lejátszásra* [16]. *Érdemes feljegyezni, hogy hány generáció után bukkan fel a célmondat, és hányadik generációban válik uralkodóvá. Ha túl kicsi a másolási hiba valószínűsége, akkor kivárhatatlanul lassú az evolúció a cél felé. Ha túl nagy a hibaszázalék, a már megtalált betűk is elmutálnak, mielőtt elszaporodtak volna. Minden szöveghosszúsághoz tartozik egy evolúció szempontjából ideális hibagyakoriság. Ez* $\varepsilon = I^{-1}$, *ha* I *a szöveg bitekben kifejezett információtartalma.*]

13A. Az élet kialakulása

Ilyen tapasztalatgyűjtés után visszatérhetünk eredeti problémánkhoz: a genetikai kód kialakulásához. EIGEN [14] nyomán idézzük fel a földi élet kibontakozásának egy lehetséges menetét.

1. A fiatal Föld redukáló légkörében (CH_4, NH_3, H_2O) az ultraibolya sugárzás hatására többszörös kötéseket tartalmazó, tehát energiadús és polimerizációra hajlamos molekulák képződtek ($HC{\equiv}N$, $H_2C{=}O$). Ezeket a poláros molekulákat az eső belemosta az óceánba. Ott belőlük cukrok, aminosavak, adenin-típusú gyűrűk álltak össze, azok pedig vaktában kisebb fehérjékké, nukleinsavakká kapcsolódtak. Az első nukleinsavak szintézisét és reprodukcióját a vak fehérjék katalizálták, megindult a nukleinsav (E2) exponenciális szaporodása. Mivel fehérjék csak abiogén úton véletlenül keletkeztek, majd szét is estek, számuk korlátozott volt. A katalizátorhiány korlátozta a megsokasodott nukleinsav-molekulák dN/dt szaporodási sebességét.

2. Szelekciós előnyhöz jutott az a nukleinsav, amelynek — véletlen mutációk során kialakult — alkalmas gyűrűszekvenciája elősegítette a replikációhoz szükséges enzimek szintézisét. Az önmagukat reprodukálni képtelen fehérjék lineáris stratégiával keletkeznek a kémiai evolúció során, de a Második Főtétel értelmében (a radioaktív bomlástörvényhez hasonlóan) önként szétesnek:

$$\frac{dF}{dt} = A - HF.$$

Amikor azután a nukleinsavak megtanulták szintézisük irányítását:

$$\frac{dF}{dt} = SN - HF.$$

A fehérje egyszerűbb a nukleinsavnál, gyorsabban termelődik. F növekedtével hamar beáll a mindenkori nukleinsav-koncentrációnak megfelelő egyensúly:

$$\frac{dF}{dt} = SN - HF = 0\,, \quad \text{innen} \quad F = \frac{S}{H} N\,.$$

Nukleinsav reprodukciójához nukleinsav-minta és fehérje-katalizátor szükséges:

$$\frac{dN}{dt} = k\,NF\,.$$

A fehérjemennyiség a nukleinsav-mennyiséggel arányos, tehát

$$\frac{dN}{dt} = k\,N\left(\frac{S}{H} N\right), \quad \text{azaz} \quad \frac{dN}{dt} = KN^2\,.$$

($K = kS/H$.) A fehérjeszintézist felfedező nukleinsavak az exponenciális szaporodásról a hiperbolikus szaporodásra váltanak át! (Ezt írtuk le részletesebben az előző fejezetben a hiperciklus bemutatásakor.)

3. Az egyik nukleinsav-molekula által termelt fehérje tovalebeghet az óceánban, segíthet egy másik nukleinsav reprodukáló tevékenységében (cross-feeding), ezt fejezi ki a hiperbolikus szaporodás. A híg oldatban a legyártott fehérje távozása veszteség a nukleinsav számára. Szelekciós előnyt szerez az a nukleinsav, amely maga közelében képes tartani az általa szintetizált fehérjét. Vaktában ingadozó betűsorrend véletlenül olyan nukleinsav-molekulát hozott létre, amely spontán hártyaképzésre hajlamos anyagot kezdett termelni (gondoljunk a szappanhabra). Ebből az anyagból a nukleinsav körül zárt burok formálódott, amely belsejében megőrizte a legyártott fehérjemolekulákat. Így bontakozott ki a sejtszerkezet. A kompartment-kialakulás tehát szelekciós előnnyel jár [10, 11]. Már nem számít az odakünn úszkáló többi nukleinsav-molekula, a sejten belül állandó magas szintet vesz fel a fehérjekoncentráció: F_0 = állandó. A sejtosztódás ismét exponenciális törvényt követ.

$$\frac{dN}{dt} = kF_0\,N(t)\,,$$

$$N(t) = N(0)e^{kF_0 t}\,.$$

Ez már az az élet, amelyet ma ismerünk.

Vizsgáljuk meg az Eigen által felvázolt menetrendet az információ evolúciójának e szempontjából. A kezdeti egyszerű nukleinsavak (vak fehérjék által katalizált) szaporodása exponenciális törvényt követett, így (E9) szerint képes volt evolúcióra. Az evolúció során döntő lépés volt az informált fehérjék (recept szerint készült enzimek) szintézisének feltalálása.

A fehérjeszintézissel együtt jelenik meg a nukleinsav→fehérje átírást megszabó genetikai kód, és fejlődésnek indul. Ebben a szakaszban azonban hiperbolikus a szaporodás. Evolúcióra csak rövid ideig van mód: addig, amíg a legnagyobb kN szorzatot felmutató változat egyeduralkodó nem lesz. Ilyenkorra az összes többi változat eltűnik. A genetikai kódnak csak rövid idő jutott evolúcióra. A hiperbolikus törvény hamar leblokkolta a fejlődést, egyetlen változatot véglegesített és tett egyeduralkodóvá. Így válik érthetővé

a genetikai kód univerzalitása, és az a tény is, hogy a kód mai formája egy közel három milliárd éve befagyott döntő történeti pillanat emlékét őrzi. (Ez a következtetés azon a feltevésen alapul, hogy az élet története során létezett egy felvonás, amikor irányított fehérjeszintézis már folyt, de sejtfalképző membrántermelés még nem. Más szerzők, így GÁNTI [23, 24] kikerülik ezt a felvonást.) A kölcsönös segítésnél még hatékonyabb stratégia, amikor a nukleinsav-molekula körül sejtburok biztosít kedvező kémiai környezetet. A sejt belsejében az eredeti tápdús óceán egy cseppje maradt fenn. Itt az önreprodukció függetlenült a többi nukleinsav-molekulától, a szaporodás ismét exponenciális. Újra megindulhat az evolúció, de többé nem érintheti a genetikai kódot. Hiszen a sejt olyan komplex organizmus, amelyben bármilyen kicsi kódmódosítás az enzimek egész összekapcsolódó rendszerét hatástalanítaná. Minden kódmutációt azonnal kiküszöböl a természetes kiválasztás.

A kód nem változik többé, de a sejt beláthatatlanul gazdag fejlődéstörténetre vált képessé. Amiként a magyar nyelv akadémiai helyesírási szabályzatban rögzített szavait használva, a szókapcsolás szabályait tiszteletben tartva is irodalmi és tudományos remekművek végtelen sorozata alkotható.

13B. A természetjáték

Üljük körbe az asztalt. Az egyik játékos (nevezzük rövidség kedvéért Természetnek) megkever egy pakli bridgekártyát, és azt egyenlő számban szétosztja a játékosok közt. (Utóbbiakat nevezzük Kutatóknak.) Jó, ha minden Kutatónak kb. 10 kártya jut, tehát egy Természet és három-öt Kutató alkot ideális méretű társaságot. Nem baj, ha az osztás után egy vagy két kártya fennmarad. Kezdődik a játék. A Természet felüt egy megmaradt kártyát az asztal közepén, és felszólítja a Kutatókat, hogy sorban tegyenek rá egy-egy lapot. Úgy, hogy az előző kártyák is láthatók maradjanak, felismerhetők legyenek. Ha a Kutató a Törvénynek megfelelően tesz egy lapot, a Természet megszólal: I g e n. Ha a Kutató a Törvénnyel össze nem férő lapot helyez a kártyasorozat végére, a Természet közli: N e m. Utóbbi esetben a Kutatónak vissza kell vennie a hibás lapot, tehát ebben a körben ő nem tett. Az a Kutató nyer, akinek a lapjai leghamarabb elfogynak, aki tehát legtöbbször cselekedett a Törvénnyel összhangban. (Jutalma, hogy ő lesz a Természet a következő játékban.) A többi Kutató annyi hibapontot kap, ahány lap maradt a kezében.

A játékot az teszi érdekessé, hogy a Törvényt a játék elején csak a Természet ismeri. (Nem csoda, hiszen indulás előtt ő találta ki.) Kezdetben a Kutatók kísérleteznek a kártyák elhelyezésével. A kártyák asztalra kirakott sorozatából, az elhangzott I g e n—N e m válaszokból próbálnak következtetni. A játék során egyre nő a kísérleti anyag. A Kutatók előbb analógiákkal próbálkoznak, hogy megfelelő kártya lerakásával csökkentsék lapjaik számát. A kudarcok a hipotézis elvetését vagy finomítását eredményezik. Siker esetén — vagy megfelelő lap híján — a Kutató a részletszabály általánosításával próbálkozik, a teljes Törvény felfedezésére törekszik. Ha valaki felismeri a Törvényt, onnan kezdve minden lap letétele sikeres, kezéből gyorsan fogynak a kártyák. Ha a Törvény túlságosan bonyolult, akkor a játék végén is csak speciális esetekre korlátozódó részszabályokat ismernek fel a Kutatók, ilyenkor nem lesz nagy különbség a végül kézbemaradt lapok számában. A játék végén a Természet annyi jópontot (hibapont-levonást) kap, amennyi a legtöbb kártyával záró Kutató lapjainak száma (amennyi a játékban kiosztott

maximális hibapont). A Természetnek érdeke tehát, hogy felismerhető, mégsem triviális Törvényt gondoljon ki. Ekkor lesz érdekes a játék.

A Törvénynek (az I g e n—N e m következtetésnek) egyértelműnek kell lennie. (Annak működését a Kutatók úgyis sokszor ellenőrzik a kirakott kártyasorozaton. Ha csal a Természet, ha játék közben próbál módosítani a Törvényen, megverik.) Célszerű, de nem kötelező, hogy a Természet közelhatási törvényt használjon. (Hogy a letett kártya jó-e, az csak a megelőző laptól függ.) Akkor megy frissen a játék, ha a letett lapnak kb. 50% esélye van arra, hogy megfelelő legyen. Ha a Törvény túlságosan szembeszökő, nem nyílik szét a mezőny. (Pl. a „pirosra feketét, feketére pirosat" szabály olyan szembeszökő, hogy mindenki hamar felismeri. Nem kap sok jópontot a Természet.) Az izgalmas Törvény egyszerű, mégis meghökkentő, mert a kártyalapok nagyon eltérőnek ítélt, az Átlagkutató által nem könnyen asszociált tulajdonságpárja közt ad kapcsolatot. (Pl. „pirosra páros, feketére páratlan".) A Kutatókat lélektanilag befolyásolja a korábban felfedezett törvény jellege is.

[*A játék* [38] *nyilvánvalóan a természetkutatást modellezi, miként a háborút a futball vagy a sakk. Alkalmas arra, hogy fiatalokat nyílt kutatói szemléletre, bátor problémaérzékenységre és a legvonzóbb hipotézisek könyörtelen elvetésére neveljen, ha azok túlhaladottá válnak. A játék szépen szemlélteti a kutatás érdekességét. Tapasztalatom szerint egyaránt szívesen játsszák gimnazisták és kutatóintézetek tudományos munkatársai. Nem mindig az utóbbiak bizonyulnak jobbnak.* LÁNCZOS KORNÉL [31] *szavai szerint „a zsenihez a gyerek áll legközelebb". Bizonyos foglalkozási rétegek képviselői ezt a játékot ellenszenvesnek találják. Ők inkább meccsre járnak, szurkolni . . .*]

14. Végtelen evolúció

Az élet 3,8 milliárd éve fejlődik a Földön, ez alatt ért el első elemi formájától — az evolúció törvényeit követve — mai magas összetettségű (a környezeti lehetőségeket jól kihasználó) alakjáig. Jelölje τ_0 azt a rövid időtartamot, amit ma az élet egy mozzanata (egy szívdobbanás, egy gondolat, egy cselekedet) igényel. Δt hosszú idő alatt $\Delta b = \Delta t/\tau_0$ jelenti a megélt biológiai események számát, amelyek közt ott vannak a szív dobbanásai, a beszéd kimondott szavai, az evolúciót eredményező elemi lépések is. Minden ilyen τ_0 idő alatt végbemenő biológiai eseményt elkerülhetetlenül spontán entrópiaprodukció kíséri. Egy eseményre (biológiai időegységre)

$$\frac{dS}{db} = \frac{dS}{dt} : \frac{db}{dt} = \frac{dS}{dt}\tau_0 = \frac{P_0\tau_0}{T_0}$$

entrópianövekmény esik. Itt T_0 a működési hőmérséklet és P_0 a leadott hőteljesítmény. Nagyságrendi tájékozódás céljából egy ma élő emberre $P_0 \approx 300$ watt, $T_0 = 300$ K, $\tau_0 \approx 1$ sec értékeket helyettesítve

$$\frac{dS}{db} \approx 1 \text{ Joule/K}$$

adódik. Emberszabású empirikus egységekben kifejezve egységnyi minden cselekedetünk entrópia-ára. Talán még szemléletesebb ez az eredmény, ha az entrópiát bit egységben mérjük. Ha a makroállapot többértelműségét i g e n—

nem játékkal kívánjuk egyértelművé (jól meghatározott mikroállapottá) pontosítani, és ehhez I számú válasz (I bit információ) szükséges, akkor a makroállapot Z termodinamikai valószínűsége (ugyanazt a makroállapotot megvalósító különféle mikroállapotok száma)

$$Z = 2^I$$

alakba írható. Így az entrópia szokásos definíciója szerint

$$S = k \ln Z = (k \ln 2) I,$$

tehát

$$\frac{dI}{db} = \frac{1}{k \ln 2} \frac{dS}{db} = \frac{1}{\ln 2} \frac{P_0 \tau_0}{k T_0}$$

az emberi élet egy „biológiai eseményére" eső termodinamikai információdisszipáció bit egységben mérve. Az imént használt számadatokat behelyettesítve $dI/db = 10^{23}$ adódik. Ez éppen az Avogadro-szám nagyságrendje. Talán nem teljesen véletlenül: ez az emberi méretek és molekuláris méretek viszonyát kifejező szám. Ilyen nagy rendetlenséget kell környezetünkben keltenünk minden egyes értelmes tettünkért. Ezt úgy is ki lehet fejezni, hogy az emberi bonyolultságú organizmus

$$P_0 = \frac{T_0}{\tau_0} \frac{dS}{db} = \frac{k T_0}{\tau_0} \ln 2 \frac{dI}{db}$$

teljesítményleadással fizet a dI/db komplexitási érték által jellemzett intenzitású működéséért. Ha egy űrhajóba zárt embernek az elkerülhetetlen entrópiaprodukció eltávolításához szükséges hőt (III c) értelmében véges mennyiségű F szabadenergia-készletből kell fedeznie, akkor $P_0 > 0$ miatt véges lesz az élettartama. Ha egy $N = 10^{10}$ főnyi civilizációnak korlátos mennyiségű szabadenergia (kőolaj, urán, napsugár) áll a rendelkezésére, akkor véges a civilizáció élettartama. Egy populáció előtt (pl. csillagászati energia-korlátozottság miatt) véges evolúciós lehetőség áll. Ez könyörtelenül elkerülhetetlennek elfogadott következtetés volt már Madách Imre korában is.

A bevezetőben arra utaltam, hogy a fizikusi gondolkodás csapongóbb, mint a biológusi. Szeret játszani azzal a lehetőséggel, hogy nem csupán a földi életre, hanem általában a lehetséges életekre gondol. Ezt a mentegetőzést előrebocsátva energiagazdálkodásra orientált szemléletű korunkban talán nem lesz unalmas felidézni az egyik legmélyebb elméjű elméleti fizikus, Freeman Dyson [12] szellemesen provokatív gondolatmenetét. Ő a következő kérdésre keresett választ: mekkora biológiai jövő (b_{max}) állhat egy életközösség (űrhajó-népesség vagy bolygó-ökoszisztéma) előtt, ha véges a rendelkezésre álló F szabadenergia mennyisége?

Az egyszerű válasz ez volna:

$$F = N P_0 t_{max}$$

ahol N az egyedszám. Innen

$$b_{\max} = \frac{t_{\max}}{r_0} = \frac{F}{NP_0\tau_0} = \frac{F}{NkT_0 \ln 2}\left(\frac{dI}{db}\right)^{-1},$$

ami a b biológiai időre jól meghatározott véges korlátot ad.

Hogy javítsuk a jövő perspektíváit, fogadjuk el játékszabálynak a DYSON által feltételezett biológiai skálahipotézist. E szerint egy T_0 hőmérsékleten és E_0 energiaszinten működő organizmus szerkezetének mintájára létezhet egy $T = \lambda T_0$ hőmérsékleten $E = \lambda E_0$ energiaszinten működő organizmus, amelynek azonos az információfeldolgozási hatásfoka, azonos dI/db értéke. (Itt a kT = *ekvipartíciós energia* összefüggést vettük figyelembe.) Az $E = hv$ törvény sugalmazása alapján azt is feltételezzük, hogy az utóbbi organizmus v biológiai frekvenciája $v = \lambda v_0$ összefüggésben áll a ma létező organizmus v_0 frekvenciájával, így τ eseményideje $\tau = \tau_0/\lambda$ szerint adódik a mi τ_0 eseményidőnkből.

A változó testhőmérsékletű állatok hőmérsékletérzékenysége ennél nagyobb. Most nem egy organizmus különböző hőmérsékleten való működési sebességeit hasonlítjuk össze, hanem különböző hőmérsékletekhez ideálisan alkalmazkodott, de hasonló elven működő organizmusok üzemsebességét. (Molekuláris felépítettségünk kvantált energiaszintjei és a genetikai információ nukleotidbetűkben kódolt tárolása bennünket több vonatkozásban digitális számítógéphez tesz hasonlóvá. A DYSON-féle skálatranszformáció viszont inkább analóg felépítésű szerkezetnél képzelhető el.) Válasszuk pl. a $\lambda = 0{,}01$ értéket! Ez a működési hőmérséklet századrészre való csökkentésének, ugyanilyen mértékben alacsonyabb energiaszintnek és százszorta lassúbb életműködésnek felel meg. Két összehasonlított szerkezetre általában

$$T\tau = T_0\tau_0.$$

Számítsuk ki ezután, milyen P teljesítménnyel dolgozna egy ilyen alacsony T hőmérsékleten levő, egyébként működéshű organizmus.

$$\frac{dS}{db} = k \ln 2 \frac{dI}{db} = \frac{dS}{dt} : \frac{db}{dt} = \frac{P\tau}{T} = \frac{P}{T}\left(\frac{T_0}{T}\tau_0\right),$$

azaz

$$P = \left(\frac{T}{T_0}\right)^2 \left(\frac{k'T_0}{\tau_0} \ln 2 \frac{dI}{db}\right) = \left(\frac{T}{T_0}\right)^2 P_0.$$

Az alacsonyabb T hőmérséklet a P teljesítmény erőteljes csökkenését eredményezi! (Százszorta alacsonyabb hőmérsékleten a működési sebesség százszorta, de a teljesítmény tízezerszerte kisebb, ha mindkettőnél azonos dI/db komplexitási értéket tételezünk fel.)

Az organizmus csak akkor képes entrópiáját hőleadással állandó szinten tartani, ha a leadandó hőteljesítmény nem lépi túl az izolált test maximális hőleadását, a fekete test sugárzását.

$$P \leq P_{\text{fekete}},$$

azaz

$$\left(\frac{T}{T_0}\right)^2 \left(\frac{kT_0}{\tau_0} \ln 2 \frac{dI}{db}\right) \leq A\sigma T^4,$$

ahol A a test sugárzó felülete, és σ a STEFAN—BOLTZMANN-féle sugárzási törvény állandója. Ebből az egyenlőtlenségből

$$T \geq \left(\frac{k \ln 2}{T_0 \tau_0 \sigma A} \frac{dI}{db}\right)^{1/2} = T_{\min}.$$

Adott bonyolultságú (meghatározott dI/db komplexitásértékkel jellemzett) organizmus T működési hőmérséklete nem csökkenthető korlátlanul. Van egy véges legkisebb

$$P_{\min} = \left(\frac{T_{\min}}{T_0}\right)^2 P_0$$

hőteljesítmény, ami végessé teszi a korlátos F szabadenergia-mennyiség felett rendelkező organizmus életidejét.

DYSON szerint ebből az impasszból van kiút: a hibernálás stratégiája. Tételezzük fel, hogy a struktúra idejének csak q hányadát tölti T hőmérsékleten, ez alatt az idő alatt működik (növeli b biológiai időtartamát) és hőt termel ($P > 0$). Az idő fennmaradó $1 - q$ hányadában az organizmus a környezet nagyon alacsony hőmérsékletén van hibernálva, életműködése áll (b nem nő), tehát nem termel hőt (P nincs), de a kisugárzó felület (antenna) továbbra is T hőmérsékleten marad és szerteszét sugározza a leadandó hőt.

A Δt idő alatt termelt hő

$$Q = \left(\frac{T_0}{T}\right)^2 P_0 q \Delta t,$$

a Δt idő alatt kisugárzott hő

$$Q = A\sigma T^4 \Delta t,$$

ami tetszőleges hőmérsékleten egyenlő lehet, ha a működési időszakaszokat a működési hőmérséklethez igazítjuk.

$$q = \left(\frac{T}{T_0}\right)^2,$$

és ha a sugárzó felületet elég nagyra méretezzük,

$$A = \frac{P_0}{\sigma T_0^4}.$$

Számítsuk ki: mennyi biológiai időt ér meg az ilyen organizmus a mai t_0 pillanattól $t_{\max}$-ig terjedő fizikai idő alatt?

$$b(t_{\max}) = \int_{t_0}^{t_{\max}} q \frac{dt}{\tau} = \frac{1}{\tau_0} \int_{t_0}^{t_{\max}} \left(\frac{T}{T_0}\right)^3 dt.$$

Mekkora a felhasználandó szabadenergia?

$$F(t_{\max}) = \int_{t_0}^{t_{\max}} q\,P\,dt = \frac{k\,T_0}{\tau_0} \ln 2 \frac{dI}{db} \int_{t_0}^{t_{\max}} \left(\frac{T}{T_0}\right)^4 dt\,.$$

Utóbbiban a T működési hőmérséklet magasabb hatványon szerepel! A hőmérséklet fokozatos csökkentésével véges értéken kívánjuk tartani a felhasznált szabadenergiát. Legyen T az idő csökkenő függvénye. A mai időpontot t_0-lal, a múló fizikai időt t-vel jelölve

$$\frac{T}{T_0} = \left(\frac{t_0}{t}\right)^{\alpha} \to 0\,,$$

ekkor

$$F(t_{\max}) = \frac{kT_0}{\tau_0} \ln 2 \frac{dI}{db} t_0^{4\alpha} \int_{t_0}^{t_{\max}} \frac{dt}{t^{4\alpha}} = k\,T_0 \frac{\ln 2}{4\alpha - 1} \frac{t_0}{\tau_0} \frac{dI}{db} \left[1 - \left(\frac{t_0}{t_{\max}}\right)^{4\alpha-1}\right],$$

ami $t_{\max} \to \infty$ esetén is v é g e s érték, ha $\alpha > 1/4$.

$$F(\infty) = k\,T_0 \frac{\ln 2}{4\alpha - 1} \frac{t_0}{\tau_0} \frac{dI}{db}\,.$$

Ezalatt eltelt biológiai idő

$$b(t_{\max}) = \frac{1}{\tau_0} \int_{t_0}^{t_{\max}} \left(\frac{t}{t_0}\right)^{3\alpha} dt = \frac{1}{1 - 3\alpha} \frac{t_0}{\tau_0} \left[\left(\frac{t_{\max}}{t_0}\right)^{1-3\alpha} - 1\right],$$

ami $\to$ v é g t e l e n, ha $\alpha < 1/3$. Például α=0,3 választva

$$T \sim t^{-0,3} \text{ és } q \sim t^{0,6}$$

stratégia esetén végtelen biológiai idő, akár végtelen evolúció volna elérhető véges

$$F = 5 \ln 2 \cdot kT_0 \frac{t_0}{\tau_0} \frac{dI}{db}$$

szabadenergia felhasználásával!

*

A jövőben tett optimista filozófiájú, de s c i e n c e f i c t i o n ízű kalandozással illő lezárnunk az evolúcióról és annak modellezéséről szóló írást. Elsődleges célom volt, hogy serkentsem, sőt provokáljam a dialógust biológusok és fizikusok közt azzal, hogy biológusok számára váratlan nézőpontból mutassak be jól ismert biológiai törvényeket. A témákat disszipációról és evolúcióról egy iskolaévben tanuló gimnazisták töprengései, biológiát tanuló fizikushallgatók és fizikát tanuló biológushallgatók keresztkérdései, biológusok és fizikusok közt az élet eredetéről folytatott viták vetették fel.

A beszélgetésekért és kritikákért köszönettel tartozom FRANCIS CRICKnek, CSÁNYI VILMOSnak, GÁNTI TIBORnak, GNÄDIG PÉTERnek, JUHÁSZ-NAGY PÁLnak, LESLIE ORGELnek, VIDA GÁBORnak, WIGNER JENŐnek. A problémák eltérő feldolgozásai talán e téren is serkenteni fogják a gondolatok evolúcióját. Amint PAUL VALERY mondta: „L' esprit va dans son travail, de son desodre, a son odre. Il importe qu'il se conserve jusqu'à la fin, des ressources de désodre, et que l'odre qu'il a commencé de se donner ne se lie pas si complement, ne lui soit pas un si rigide maître, qu'il ne puisse le changer et user de sa liberté initiale".

IRODALOM*

1. ARRHENIUS, A. (1908) *Worlds in Making.* Harper and Row, New York.
2. BARRELL, G. G., BANKIER, A. T., DROVIN, J. (1979) *Nature*, **282**, 183.
3. BENNETT, C. H. (1979) *Biosystems*, **11**, 85.
4. BURKS, A. W. (ed) (1970) *Essays on Cellular Automata.* University of Illionis Press, Urbana.
5. CALDER, N. (1973) *The Life Game.* BBC edition, London.
6. CHAPPEL, W. R., MEGLEN, R. R., RUNNELLS, D. D. (1974) *Icarus*, **21**, 513.
7. CRICK, F., ORGEL, L. E. (1973) *Icarus*, **19**, 341.
8. CRICK, F. (1970) *Of Man and Molecules.*
9. CRICK, F., BRENNER, S., KLUG, A., PIECZENIK, G. (1976) *Origins of Life*, **7**, 389.
10. CSÁNYI, V. (1978) *Fiz. Szem.*, **28**, 401, 441.
11. CSÁNYI, V. (1979) *Az evolúció általános elmélete.* Akadémiai Kiadó, Budapest
12. DYSON, F. J. (1979) *Rev. Modern Phys.*, **51**, 447.
13. EHRENFEST, P., EHRENFEST, T. (1907) *Phys. Zeitschrift*, **8**, 311.
14. EIGEN, M. (1971) *Naturwissenschaften*, **58**, 465.
15. EIGEN, M., WINKLER, R. (1975) *Das Spiel.* Piper, München.
16. EIGEN, M. (1976) *Berichte der Bunsen-Gesellschaft*, 1060.
17. EIGEN, M. (1977) *Naturwissenschaften*, **64**, 541.
18. EIGEN, M. (1978) *Naturwissenschaften*, **65**, 341.
19. FISCHER, R. (1930) *The Genetic Theory of Natural Selection.* Clarendon Press, Oxford.
20. GARDNER, M. (1970) *Scientific American*, **233**, 120.
21. GARDNER, M. (1971) *Scientific American*, **234**, 112.
22. GARAY, A. (1970) *Fiz. Szem.*, **20**, 106.
23. GÁNTI, T. (1978) *Az élet principiuma.* Gondolat.
24. GÁNTI, T. (1979) Akadémiai doktori disszertáció.
25. GNÄDIG, P. (1978) *Élet és Tudomány*, augusztus.
26. GUALTIERI, D. M. (1977) *Icarus*, **30**, 234.
27. JACOB, F. (1970) *A tyúk és a tojás.* Gondolat.
28. KESZTHELYI, L. (1977) *Origins of Life*, **8**, 299.
29. KIMURA, M. (1971) *Theoretical Aspects of Population Genetics.* Princeton University Press.
30. KIMURA, M. (1979) *Scientific American*, **241**, 94.
31. LÁNCZOS, K. (1978) *Einstein évtizede.* Magvető, Budapest
32. LAING, R. (1977) *J. Theor. Biology*, **66**, 437.
33. LENINGER, H. (1977) *Biochemistry*, Second Edition.
34. LINDENMAYER, A. (1968) *J. Theor. Biology*, **18**, 280.
35. MARX, GY. (1979) *Acta Astronautica*, **6**, 221.
36. MARX, GY. (1979) *Fiz. Szem.*, **29**, 221.
37. MARX, GY. (1979) *Fiz. Szem.*, **29**, 256.
38. MARX, GY. (1979) *Fiz. Szem.*, **29**, 290.
39. MAYNARD-SMITH, J. (1976) *Evolution and the Theory of Games. American Scientist*, **64**, 41.
40. MAYNARD-SMITH, J. (1979) *Nature*, **280**, 445.

* Tekintettel e cikk újszerűségére és érdekes problémafelvetéseire a Szerkesztő Bizottság kivételesen eltekintett — a Szerző kívánságára — az irodalmi hivatkozásoknak a Technikai Útmutatóban megadott módon való megadásától.

41. NEUMANN, J. (1951) The General Theory of Automata, p. 1. *In: Cerebral Mechanism in Behaviour.* John Wiley, New York.
42. NEUMANN, J. (1956) *In:* SHANNOY, E. and MCCHARTY J. (eds.): *Automata Studies*, Princeton University Press, Princeton.
43. ORGEL, L. E. (1973) *The Origins of Life.* Chapman and Hall, London.
44. ORGEL, L. E. (1974) *Icarus*, **21,** 518.
45. PRIGOGINE, I. (1976) *Fiz. Szem.*, **26,** 161.
46. SCHIDLOWSKI, M. (1980) *Naturwissenschaften*, **64.**
47. SPIEGELMAN, S. (1968) *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, **60,** 866.
48. SZENTÁGOTHAI, J. (1980) *Fiz. Szem.*, **30,** 361.
49. TAKÁCS, V. (ed.) (1978) *Sejtautomaták.* Gondolat.
50. THOM, R. (1975) *Structural Stability and Morphogenesis.* Benjamin, New York.
51. ULAM, S. (1970) *Essays on Cellular Automata.* University of Illinois Press, Urbana.
52. ZEEMAN, E. C. (1977) *Catastrophe Theory.* Addison-Wesley, London.
53. ZIMÁNYI, J., CSERNAI, L. (1978) *Fiz. Szem.*, **28,** 295.

THE GAME OF LIFE

Marx, G.
Department of Atomic Physics, Eötvös University Budapest, Hungary

A review of the mathematical models of evolution is given. The role of the Second Law of Thermodynamics is emphasized in creating a possibility for the evolution of self-reproducing structures. The main conclusions are illustrated with several simulation games.

Biológia, 28, 1980, 199—209

AZ EVOLÚCIÓS FOLYAMATOK STRUKTURÁLIS LEÍRÁSA

ÚJHELYI MÁRIA

Semmelweis Orvostudományi Egyetem Marxizmus—Leninizmus Intézete, Budapest

Beérkezett: 1980. február 26-án

Kulcsszavak: evolúció, komplexitás-növekedés

Összehasonlító genetikai (citogenetikai) vizsgálatok alapján kimutatható, hogy van legalább néhány olyan molekuláris, kromoszomális változás, melyek történeti egymásutánjában kirajzolódik valamilyen trend, fejlődési vonulat. Ilyen tendenciaszerű változásnak bizonyult például a genom duplikációja vagy a kromoszómák számának csökkenő, illetve a kromoszómakarok számának növekvő tendenciája, ami az akrocentrikus kromoszómák heterokromatikus karral való kiegészülésének, illetve metacentrikussá fuzionálásának következménye. Ezt a folyamatot — amelynek lényege tehát az, hogy egy döntően akrocentrikus kromoszómákból álló, primitív szerelvényből egyre több metacentrikust tartalmazó jön létre — a legkülönbözőbb emlősrendekben kimutatták (az erre vonatkozó adatok részletesebben egy korábbi írásomban találhatók [30]), de más gerinces osztályokhoz tartozó csoportoknál, például a kígyók alrendjében is megtalálták [26]. Mindkét említett változási forma esetén fennáll, hogy nemcsak egyetlen fejlődési vonulatra érvényesek, hanem elkülönült, egymástól független fejlődési ágakban paralell folyamatnak mutatkoznak — különösen a kariotípus evolúciójára vonatkozó adatok szemléltetik meggyőzően a párhuzamosságot —, amelyek ennélfogva törvényszerűnek tekinthetők, azaz feltehető, hogy a genetikai változások sorozatában is érvényesül törvényszerűség. Továbbá ezek a változási tendenciák megfeleltethetők organizmusszintű fejlődési folyamatoknak, azaz, bizonyosan van legalább néhány olyan átalakulás, melynek állomásai egybeesnek az organizmus szinten feltárt állomásokkal. Bizonyos tipikus DNS szekvenciák megjelenése — úgy látszik — egybeesik filogenetikai csoportok megjelenésével: palindroma szekvenciák az eukarióta sejttel [3], alternáló közepesen ismétlődő szekvenciák a metazoákkal [8]. A genomduplikáció állomásai nagyjából a törzsi elkülönülésnek feleltethetők meg [27], a csökkenő kromoszómaszám nemek, fajok szintjén releváns [13, 15].

Ez az eredmény mindenképpen ellentétben áll azokkal a korábbi tapasztalatokkal, amelyek a molekuláris változások evolúciós közömbösségére utaltak, ti. a fajok közötti genetikai távolság meghatározásának az aminosavsorrendek összehasonlításából nyert adataival. Az aminosav pótlások rátája nem tükrözi a filogenetikai különbségeket, amiből levonhatónak látszott az a következtetés, hogy a genetikai változások nem korrelálnak az organizmusszintű változásokkal [19].

Az ellentmondás forrása a genetikai információ lényegének, ill. változásának megítélésében rejlik. Az egyik esetben a primer bázissorrend, ill. ennek

változása (alapvetően a pontmutációk), a másik esetben a DNS-nek a génjellegű tagoltság mellé vagy a fölé rendelhető struktúrája, ill. a struktúra változása képezte a vizsgálódás kiindulópontját, amely utóbbi szoros kapcsolatban van a génreguláció kérdésének előtérbe kerülésével.

Valóban, a fent említett genetikai trendek tartalma éppen strukturális, a szerveződésmódban bekövetkező változás, progresszió, amit összefoglalóan *komplexitás-növekedésként* definiáltunk [30]. Ez részben mennyiségi változásban (felhalmozódás, összetettebbé válás), részben — a mennyiségi változásokkal összefüggésben — strukturális átrendeződésben jelenik meg.

A komplexitás-növekedés kategoriális tartalma további elemzésre szorul, már csak azért is, mert az összetettebbé válás, bár irányult volta kétségtelen, nem minden evolúciós lépés sajátja; a strukturális átrendeződés, ebben az általános formában, nem implikál irányt.

E célból egy kitérőt szeretnék tenni néhány, az evolúciós folyamatok jellegével kapcsolatos probléma felvetésével, amely egyben választ ad arra a kérdésre is, hogy a strukturális leírás kiterjeszthető-e az evolúció egészére.

Az evolúció néhány formális összefüggése

Ezzel a kifejezéssel a fejlődés ütemével és az elágazások rendjével kapcsolatos problémákat jelölöm.

A természetes szelekció — amint ezt DARWIN többször is hangsúlyozta — lassú, lényegében egyenletes, fokozatos, átmeneti formákat létrehozó evolúció lehetőségével áll összhangban. E modellhez képest a filogenezis reális folyamataiban eltérések találhatók, melyek magyarázatára, értelmezésére kiegészítő feltételek bevezetése szükséges.

Az evolúciós tempó várhatóan nagyjából egyenletes eloszlásával szemben az átlagostól pozitív, illetve negatív irányba mutató eltérések tapasztalhatók. Vannak stagnáló, alakjukat évmilliók, sőt százmillió évek óta megőrzött taxonok, például a puhatestűek vagy a tüskésbőrűek körében, más csoportok azonban igen gyorsan fejlődtek, például a lófélék vagy a főemlősök. Az ilyen eltéréseket extrém környezeti feltételek nem magyarázzák kielégítően, bár sok esetben nyilvánvaló, hogy egy élőhely elzártsága, a konkurrencia hiánya a csoport ősi alakjának megőrződését támogatja. Az eltérések magyarázatának általánosabb megalapozását a populációgenetika nyújtja. A mutációk elterjedésének és fixálódásának esélyeit kutatva, felfedezik a populáció nagyságának evolúciós szerepét [14]. Újabban felmerült, hogy a csoportnagyságot a geográfiai feltételek mellett a faj szociális szervezettségének módja is befolyásolja. Szervezettebb, kötöttebb társulási formában élő fajok gyorsabb evolúciós változást produkálnak, mivel a tényleges szaporodási közösségeik kisebbek, mint az egy területen együttélő populáció. Ez lehet az oka például a főemlősök gyors progressziójának is [2].

Az evolúciós tempók nemcsak a különböző taxonok vonatkozásában mutatnak eltérést, hanem a fejlődés időtengelyében is. Azaz minél korábbi korszakokra nyúlunk vissza, a fejlődés annál lassúbbnak mutatkozik. Mai ismereteink szerint az első élő szervezetek több mint 3 milliárd évvel ezelőtt jelentek meg Földünkön, de kb. 2 milliárd éven keresztül csak a legprimitívebb, prokarióta szervezetek léteztek. Az eukarióta sejt megjelenése után már néhány százmillió év elég volt a soksejtű organizmusok kialakulásához. Az

MAGYAR TUDOMÁNYOS AKADÉMIA KÖNYVTÁRA

egyes gerinces osztályok kidolgozódása már szinte 10 millió években számítható. Az emlős nemek pedig átlagban sokkal gyorsabban fejlődnek, mint az alacsonyabb gerinces nemek [2, 31].

Az evolúció gyorsuló tempójának értelmezéséhez nagymértékben hozzájárul a környezet mechanikus, objektivista felfogásával szemben felvázolt alternatíva, amely a környezet változását a fejlődő rendszerrel kölcsönhatásban írja le. Eszerint egyrészt, mivel az élő működések maguk is alakítják az élettelen környezetet, s a fejlődés során egyre nagyobb mértékben, magának az élő működésnek a következtében jön létre a felgyorsuló fejlődést biztosító gyorsabb környezetváltozás. Másrészt, az élők egymás számára is környezetként funkcionálva, változatosabbá válásuk nagyobb versenyt, dinamikusabb szelekciót eredményez [9]. Ily módon az evolúció öngerjesztő folyamatként jelenik meg.

Az evolúció tempójának kérdésköréhez kapcsolódik, hogy a változás fokozatos, illetve ugrásszerű formában megy-e végbe. A természetes szelekció átmeneti típusok sokaságán keresztül a fokozatosságot implikálja. Igen sok esetben hiányoznak azonban az átmeneti típusok létére vonatkozó bizonyítékok. Hosszú ideig úgy tűnt, hogy a paleontológiai kutatások kiterjesztésével a hézagok egyre inkább kitölthetők lesznek. Az utóbbi időben azonban egyre általánosabb az a felfogás, hogy újabb és újabb fossziliák felszínre hozása sem fogja az evolúció graduális modelljét igazolni, ellenkezőleg, a meglevő adatok pozitívan bizonyítják a fejlődésben bekövetkezett ugrásszerű változásokat [12, 28]. Az ugrások magyarázatára az egyed fölött, csoport, ill. faj szinten működő szelekciós mechanizmusban látnak lehetőséget.

A fejlődéssel kapcsolatos másik problémakör az elágazások jellegét érinti. Az élővilág milliónyi faja nem egymás mellett létező sokaságként jelenik meg, hanem olyan rendszerként, amelyet a törzsfával szoktak ábrázolni. Ez azt jelenti, hogy a fajokat a leszármazás alapján nagyobb egységekbe, nemekbe, családokba, rendekbe stb. lehet sorolni, s e csoportokat olyan közös tulajdonság alapján definiálni, amely érvényes a csoport minden tagjára. Ez a természetes, leszármazáson alapuló rendszer azonban csak úgy lehetséges, ha a csoportot mint egészt jellemző *alapelv*, szerveződésmód a csoport fejlődése során *konzekvensen* változatlan marad. A gerincesek minden osztálya őrzi a gerincesség jegyeit, az emlősök minden rendje az emlősmivolt jegyeit. Továbbá úgy tűnik, minél alapvetőbb funkcióról van szó, a fejlődésnek annál korábbi stádiumában stabilizálódik, s a későbbiekben nem vagy csak jelentéktelen változáson megy keresztül. A prokarióta organizmusok sokféle anyagcseretípusával szemben az eukarióta sejt megjelenése egyben annak az anyagcsererendszernek a megjelenését is eredményezte, amely majd 1 milliárd év óta megőrződött, és a mai legfejlettebb szervezeteket is jellemzi [31].

A konzerváció olyan esetekben válik különösen nyilvánvalóvá, amikor egy szervezet a környezeti nyomással szemben is megőrzi alapstruktúráját, például a delfin, mely ugyan külső testfelépítésében idomult a vizi környezethez, az emlősök lényegi jegyeit őrzi, és sohasem fog hallá válni. A természetes rendszer hierarchikus mintája érintetlen marad akár funkcionális vagy környezeti igényekkel szemben is [24].

Ugyanennek a jelenségnek a másik oldala, hogy úgy látszik, a szétkülönülés mértéke szigorúan a fejlődés adott stádiumához kötött. Minél korábbi korszakba megyünk vissza, annál alapvetőbbek azok a különbségek, amelyek az elágazások alapját képezik. A törzsek szintjén a fejlődés például

már több mint 600 millió évvel ezelőtt elérte a mai ismert állapotot, minden nagyobb állatcsoport önállósult [11]. Tehát az a radikális szerveződésbeli különbség, ami a metazoák törzsi elkülönülésének az alapja, a soksejtű organizáció fejlődésének adott szakasza után lényegében lezárult. Hasonló a helyzet az emlős rendek esetén is, melyek lényegében az eocén elejére differenciálódtak [28]. Ez a tendencia — úgy tűnik — ellenétben áll a természetes szelekció által előidézett folyamattal, amikoris a folyamatos szétkülönülés eredményeként mind későbbi fázisban kellene az egyre nagyobb távolságokat találni. A szétkülönülés mértékét továbbá nem pusztán a folyamat rendelkezésére álló idő szabja meg, a metazoák megjelenése és törzsi elkülönülésük kialakulása egy kb. 100 millió éves periódusra esik, míg az emlősök fennállásának 300 millió éve sem eredményezett olyan mértékű változást, amely a csoportot ilyen radikálisan megosztotta volna.

Az evolúciós elágazások másik lényeges összefüggése az egyenlőtlenség. A progresszív, a továbbfejlődés nagyobb potenciáljával rendelkező taxonok nem az aktuálisan legfejlettebb formákra épülnek rá, csíráik korábbi, primitívebb stádiumra nyúlnak vissza. Így tehát az egyre fejlettebb alakulatok nem lineáris egymásutániságban követik egymást, a fejlődésnek nincs egy megszakítatlan „fővonulata".

Számos progresszív filogenetikai csoport eredetével kapcsolatos kutatási eredmény igazolja már ezt az összefüggést. Az emlősök elválása a hüllőktől igen korán bekövetkezett, emlősszerű hüllők már közel 300 millió évvel ezelőtt megjelentek [11]. A főemlős rend közismerten a legősibb emlősök közé tartozik. E renden belül az emberszabásúak eredetét feltehetően a legprimitívebb félmajmok körében kell keresnünk, ami az archeológiai bizonyítékok mellett [18] az emberszabásúak (csimpánz, gorilla) sajátos, minden más majomfajtól radikálisan eltérő családstruktúrája alapján is feltételezhető [17]. S végül — a rudabányai lelet tanúsága szerint — a mai ember nem a már kétlábon járó, eszközkészítő afrikai hominidák valamelyikének leszármazottja, hanem jóval korábbi elágazás terméke [22].

Az egyenlőtlen fejlődés törvényét — az eukarióta sejt DNS szerveződéséről az utóbbi egy-két évben nyilvánosságra hozott adatok alapján — a sejtszintű, illetve molekuláris szintű fejlődésre is kiterjeszthetjük. A vizsgálatok nyomán kiderült, hogy az eukarióta sejtek DNS-ében a fehérjéket kódoló gének nem folytonosak, „értelmes", a mRNS-ben végülis megjelenő szakaszokat (ún. exonokat) „értelmetlen", a prekurzor RNS-ből kiiktatódó szakaszok (ún. intronok) szakítják meg. Ilyen megszakított géneket a prokariótákban nem találtak. Több érv szól azonban amellett, hogy a megszakított, rövidebb darabokból álló génstruktúra ősibb állapot, mint a folytonos [7]. Ha ez így van, ez azt jelenti, hogy az eukarióta sejt a DNS struktúrának — legalább egy vonatkozásban — primitívebb stádiumát őrzi, mint amilyet a mai prokarióták képviselnek. Az eukarióta sejt tehát nem lineáris folytatása a prokarióta sejtnek, nem a ma ismert fejlettségi szintre már eljutott egyszerű sejt továbbfejlődéséből (szimbiózisából) keletkezett. A két sejttípus elkülönült fejlődési ág mentén fejlődött, s az eukarióta irányba történt leágazás bekövetkezett, még mielőtt az egyszerű sejt elérte volna fejlődésének csúcspontját.

Az evolúciós folyamatoknak fent vázolt néhány — közismert és általában, talán az egyenlőtlenségtől eltekintve, elismert — összefüggése, ha nem is áll minden esetben éles ellentétben a szelekción alapuló evolúció-értelmezéssel, abból mindenesetre nem következik szükségképpen. Az individuális szelek-

ció magasabb szintekre történő kiterjesztése (csoport, faj szinten is működő mechanizmusként leírva) csak részlegesen küszöböli ki a nehézségeket. Másik, általánosabb érvényű megoldási lehetőséget kínálnak azok a javaslatok, amelyek magának a fejlődő „szubsztanciának" strukturális összefüggéseit állítják előtérbe, mint például a fejlődés különböző tempóinak magyarázatára az állatfajok társas organizációjában levő különbségek [2].

Ebbe az irányba mutat a természetes rendszer értelmezésével kapcsolatban az a megállapítás is, hogy minél ősibbek a szervek vagy szervrendszerek valamely organizmusban, annál fixáltabbnak mutatkoznak újabban keletkezettek nagyobb változási szabadságával szemben, mivel azok funkcionálisan összekapcsolódtak és kölcsönös függőségben vannak egymással [24]. Ezek szerint minél szervesebb egy rendszer, minél inkább meghatározott és szükségképpeni viszony áll fenn az alkotóelemek között, a rendszer egészének változása annál inkább eltér a randomitáson alapuló statisztikus jellegtől.

Az a tény, hogy a struktúra szervességének mértéke meghatározza a továbbfejlődési perspektívákat, a fejlődési folyamat vonatkozásában azt a következtetést implikálja, hogy magát a struktúrát is fejlődőnek tekintsük, azaz a megjelenő evolúciós összefüggések hátterében a struktúra-koherencia kibontakozásának folyamatát tételezzük föl.

A struktúrafejlődés tehát lényegében kettős vonatkozást tartalmaz: egyrészt összetettebbé válást, másrészt — mennyiségi változásokat feltételezve — egy totalizációs folyamatot, melynek során alkotóelemekből egymást kölcsönösen feltételező rendszerelemek, többé-kevésbé halmazszerű állapotból szerves rendszer jön létre. Csányi Vilmos evolúció-koncepciója — bár fogalomrendszere eltér az ittenitől — lényegében hasonló alapelvekre épül [5].

A komplexitás-növekedés tartalma

Az evolúciót strukturális fejlődésként, komplexitás-növekedésként felfogva, meg kell mutatni, hogy a tapasztalati tények megfeleltethetők-e egy ilyen modellnek, bár pillanatnyilag inkább csak illusztrálni lehet a strukturális leírás lehetőségét.

Az összetettebbé válási folyamat — a bioevolúció legnagyobb léptékű stádiumait figyelembe véve — kétségtelennek tűnik. Az egysejtű és soksejtű organizmusok fejlődéstörténeti egymásutánja régóta közismert. Az endoszimbionta elmélet az integrációnak újabb állomását kapcsolta be, amennyiben kimutatta, hogy az eukarióta sejt összetett sejt, a mai prokariótákhoz hasonló, primer sejtes formák szimbiózisából ered. Ugyanakkor az állati társulások, szociális rendszerek kiépülése az organizmusszint fölötti organizációt jelenti. Az összetettebbé válás így legalább négy nagy stádiumot foglal magában. (A biocönozis stb. rendszerei, bár kétségkívül individuum fölötti szuperstruktúrák, más relációt tartalmaznak és nem illeszthetők ebbe a fejlődési folyamatba.) Ebben a sorozatban tehát az evolúció mindenképpen az egyre összetettebb rendszerek kiépülésének, az integrálódásnak az irányába mutat, ahol minden szint az előző szint „individuális" formáit alkotóelemként, részrendszerként foglalja magában.

Egy korábbi stádiumban önállóan létező formák részrendszerré válása nem szükségképpen jelenti azt, hogy az integráció — minden esetben — egymástól függetlenül keletkezett, függetlenül egzisztált elemek utólagos össze-

kapcsolódásaként jön létre, oly módon is megvalósulhat, hogy a kiinduló struktúra „működéstermékei" a rendszeren belül maradnak, maradhatnak, belső tagozódás, kompartmentalizáció útján. Bár az endoszimbionta elmélet prokarióta élőlények szimbiózisára alapoz, teret enged egy immanens keletkezési folyamatnak is, legalább a sejtmag vonatkozásában [20]. Az immanens keletkezés elvére épül GÁNTI TIBOR chemoton-modellje is [10], szemben azokkal a törekvésekkel, amelyek a prebiológiai evolúció során függetlenül keletkezett makromolekulák összekapcsolódási esélyeit vizsgálják.

A struktúra-fejlődés másik mozzanata a totalizáció, amelynek több vonatkozása van: a belső strukturális egységek egymáshoz való viszonya, a rendszer egészének a rajta kívülihez való viszonya, illetve a rendszernek saját múltjához, történetéhez való viszonya.

Az első szempont tehát a koherencia, azaz az, hogy a rendszert alkotó komponensek mennyiben őrizték meg önállóságukat vagy váltak már a rendszernek teljesen alárendelt, a rendszerből kiszakíthatatlan részekké. A metazoák fejlődésében példaként felhozható a sejtdifferenciálódás. A soksejtű organizmusok differenciált testi sejtjei egyetlen sejtből jönnek létre, így mindegyikük tartalmazza a fajra jellemző teljes genetikai információkészletet. Az egyes sejtek morfológiai és funkcionális elkülönülését a DNS hatalmas mennyiségének egyedfejlődési leblokkolódása idézi elő. A fejlődés alacsonyabb fokán (a növényvilágban általánosan, s egyes primitív állatfajok esetén is) a már differenciálódott testi sejtekből egyenként újra kifejleszthető a teljes organizmus [4], azaz a DNS ontogenetikus blokkja nem végérvényes, nem irreverzibilis. Míg magasabb szinten a blokk irreverzibilisnek bizonyul, egy kiemelt sejtből legfeljebb amorf sejttenyészetet lehet előállítani, differenciált organizmust nem. Azaz a fejlettebb organizmusok sejtjei integráns részét képezik a szervezetnek, önálló létezésük lehetőségét elvesztették.

Hasonlóképpen kimutatható, hogy míg az állati társulások primitív rendszere anonim egyedek kapcsolata, magasabbrendű, például főemlős társulásokból egy egyed nem emelhető ki alapvető pszichikus károsodás nélkül, fajspecifikus egyedi tulajdonságokra ténylegesen csak a „szociális" kapcsolatok gyakorlatában tesz szert. Erre az összefüggésre elsőként, drámai módon, HARLOW izolációs kísérletei hívták fel a figyelmet [15], amelyek megmutatták, hogy az elszigetelten felnevelt makákó még olyan „ösztönös" viselkedésminták kivitelezésére is képtelennek bizonyul, mint a kopuláció vagy az utódgondozás. Más kísérletek szerint a rangsorrendben elfoglalt pozíció megszabja, hogy az egyedek mit és milyen stratégiával tudnak megtanulni [29].

A totalizáció másik vonatkozása a környezethez való viszony, amelyben fejlődésként a függőség gyengülése, illetve a függetlenség fokozódása jelentkezik. (HUXLEY lényegében ezt a mozzanatot tartja a fejlettség alapvető kritériumának, példaként felhozva a tengervíz sókoncentrációjának, a hőmérséklet stb. ingadozásával szemben a belső környezet állandó szinten tartásának képességét [16].) A függetlenedés azt jelenti, hogy a rendszer fejlődése során növekszik a belső tényezők determinációjának súlya a külsők rovására, ami (legalábbis részben) azáltal jön létre, hogy egy korábbi stádium számára külsőként jelentkező tényező, valamilyen módon a rendszer által termelt, belső determinánssá válik. Ahogy például a szárazföldi élőlények vérsói annak az óceáni környezetnek a kémiai összetételét őrzik („vitték magukkal"), amelyben a primitív ősök éltek [21]. Vagy a hüllők tojásaiban az embriót körülvevő folyadék megfelel annak a vizi környezetnek, amiben a kétéltűek lárvái él-

tek [11], tehát a rendszer által termelt belső környezetté vált a korábbi stádium számára külső feltételrendszer.

A társulások fejlődésében is találhatók tendenciák a feltételek belsővé válására, például, ha a rangsorrend kialakulásának mechanizmusait hasonlítjuk össze, akár csak a főemlősök körében. Egyszerűbb szisztémákban az életkor, a születési sor automatikusan rendezi az egyedeket, míg magasabb szinteken (magasabb szint alatt itt csak a társulás komplexebb jellegét értjük, ami nem szükségképpen esik egybe a morfológiai fejlettséggel) a vezető pozícióért folytatott küzdelem kimenetelét nem pusztán fizikai vagy pszichikus képességek fölénye dönti el, hanem egy szövetséges csoport támogatása, tehát megelőző szociális kapcsolatok a dominancia megszerzésének lényeges tényezőjévé válnak [1].

S végül, a totalizációnak az előbbieket is átfogó vonatkozása, a rendszer saját történetéhez való viszonya, a tradicionalitás, ami a rendszer aktuális működésének történeti feltételezettségét jelenti. A tradicionalitás tényét metazoáknál talán leginkább a rekapituláció jelenségében, az embrionális fejlődésben — legalább részlegesen — megismételt filogenezisben lehet megragadni, vagy azokban — a jobb szó híján — rekapituláns mutánsokban, amelyekben az ősi szerkezetek a kifejlett organizmusban is megjelennek, például a háromujjú lovak esetében, amelyek teljes lábszerkezete azonos a 40 ezer évvel ezelőtt kihalt ősökével [2]. Ez és más hasonló esetek azt mutatják, hogy az ősi genetikai információ megőrződött (olyan mutáció következett be, melynek során az adott DNS szegmentum represszálódott, de nem tűnt el, nem változott meg), s talán a mai alak enélkül nem is lenne lehetséges.

A tradicionalitás ténye a társulások esetében sem vitatható, amire például a ritualizált viselkedés utal [23].

A fejlettebb struktúra tehát ráépül a megelőzőekre, megőrzi és szükségeli azokat, mégha a szinkronrendszerben nem is jutnak közvetlen funkcióhoz. S úgy tűnik, a fejlődés lehetősége egyáltalán, a struktúraváltozás tradicionális jellegében van.

Visszatérve a genetikai struktúra fejlődésének problémájára, kérdés, hogy a komplexitás-növekedés kritériumai kimutathatók-e ezen a szinten is. Az összetettebbé válás, a felhalmozódás mindenesetre igen, ami elsősorban a gén- vagy genomduplikáció formájában valósul meg. Kozlov hipotézisében a génduplikáció minden magasabb szerveződés (az eukarióta genom, a metazoa genom) kiépülésének természetes előfeltételeként szerepel, amennyiben ily módon inkompatibilis gének (ill. géntermékek) keletkeznek, amelyek együttlétezését időbeli, térbeli szeparálódásuk biztosíthatja, s ez magasabb fokú belső tagoltsághoz vezet [20].

Hasonlóképpen a heterokromatikus régiók növekedése a kariotípus evolúciójának lényeges összetevője. A kromoszómák fúzióját heterokromatizáció előzi meg [13], de az ősi homomorf ivari kromoszómák differenciálódásában is az átmeneti lépcsőfokot a heterokromatin megjelenése képezi, pl. a kígyók ivari kromoszómájának fejlődésében mutattak ki olyan stádiumot, ahol morfológiai különbség még nem regisztrálható, csupán a heterokromatin jelzi a differenciálódás megindulását [26].

A mennyiségi növekedés tehát evolúciós tendencia — bár alapvetően mint strukturális átalakulások indukálója —, s ennek nem mond ellent, hogy vannak növények, melyek genommérete meghaladja például az emberét.

A mennyiségi változás mellett nyilvánvaló a DNS kompartmentalizációjának történeti tendenciája, olyan — strukturálisan és funkcionálisan — elkü-

lönülő egységeknek, szekvenciáknak a megjelenése, amelyek korábbi stádiumban nem voltak jelen, mint például az ismétlődő szekvenciák vagy maga a kromoszomális elrendeződés. Ugyanakkor a struktúra-koherencia fejlődése még alig-alig demonstrálható, s elsősorban az organizmus-szinten tapasztalt jelenségekből lehet genetikai reprezentációjukra visszakövetkeztetni. Ez a helyzet például a rekapituláció esetében. RIEDL ugyancsak helyüket és funkciójukat együtt változtató szervek (mint pl. a hallócsontok) létéből a gének hierarchikus felépítésére következtet, illetve feltételezi, hogy a fejlődés során kialakul egy hierarchikus génstruktúra, amelyben gének csoportjai föléjük rendelt génektől függenek [24]. Az ismétlődő szekvenciák koevolúciója, szinkron változása szintén a kölcsönös függés valamilyen formájára utal.

Feltételek belsővé válásával kapcsolatban a mutációk belső ellenőrzésének kiépülése említhető, részben a mutációk előidézésében, részben azok kivédésében. Elsősorban kromoszómamutációk vizsgálata alapján állítható, hogy a mutációk a normális működéssel kapcsolatban vannak. DANCIS és HOLMQUIST a kromoszómafúziót a kromoszómák replikációs mechanizmusából vezetik le [6]. Másrészt a genetikai struktúra rendelkezik a mutációk elhárításának bizonyos lehetőségével is, aminek a reparáció csak egyik formája. Vannak struktúrák, amelyek maguk válnak a mutációkkal szemben ellenállóbbá, kimutatható például a metacentrikus kromoszómák konzervatív természete [13, 25].

Van tehát bizonyos alap arra, hogy azoknak az általánosabb eredményeknek az alapján, amelyekben kirajzolódtak a genetikai struktúra történeti átrendeződésének trendjei, egyben a komplexitás-növekedés lehetőségét is feltételezzük. Úgy tűnik azonban, hogy a genetikai struktúra koherenciájának tényleges természetéről és feltételezett fejlődéséről csak a genetikai manipuláció széles körű, összehasonlító vizsgálatai alapján lehet közelebbi információhoz jutni.

A problémák megoldási lehetősége strukturális szempont alapján

Az evolúció menetével, tempójával kapcsolatban felmerült problémáknál láttuk, hogy újabb faktorok, tényezők figyelembevételével bizonyos nehézségek megoldhatók, s ez természetes is, hiszen az élő szerveződés komplex jellegéből, sokirányú determináltságából következően széles körű azoknak a faktoroknak a tartománya, melyek kialakítják a konkrét változásokat. A strukturális értelmezés nem helyettesíteni akarja az egyes folyamatok konkrét elemzését, hanem általánosabb, elvi keretként szolgál konkrét tényezők kölcsönhatásának, összefüggésének feltárásához, illetve egyáltalán azoknak a törekvéseknek az általánosításából jött létre, amelyekben kirajzolódtak strukturális összefüggések.

A változási lehetőségek struktúra-meghatározottságából egyáltalán következik a tényleges változási vonalak többértelműsége, ami fenomenálisan a fejlődés elágazó jellegében ölt testet.

Amennyiben a változás alanya, egy hatásoknak kitett objektum nem valamilyen homogén, tagolatlan, statikus létező, hanem rendszer, méghozzá dinamikus rendszer, melyet komponenseinek egymásra épülő, összefüggő működése tart fenn, minden hatás a belső működés közvetítésével érvényesül.

Az élő rendszer működésének egyik alapvető sajátossága, hogy törekszik a rajta kívüli, környezeti változásokkal szemben belső állandóságát megőrizni. De az állandóság, illetve az egyensúly megőrzése érdekében kikényszerített működés a rendszer változását eredményezi. Csak változások, módosulások közvetítésével tudja konzervatív tendenciáit megvalósítani. Mindebből következik, hogy a módosulásnak mindig többféle lehetősége van, de az is, hogy a lehetőségek köre nem korlátlan. Az evolúció tehát nem lineáris vonulat, számos elágazás lehetséges, de csak a struktúra meghatározott részének konzervációja mellett, az elágazások jellegét a konzervatív és változó komponensek viszonya adja.

A struktúra történeti komplexitás-növekedése ugyanakkor rávilágít arra, hogy az alternatívák köre, a lehetőségtartomány a fejlődés folyamán nem lehet konstans. A felhalmozódás, az összetettebbé válás periódusaiban megnő a lehetséges változási irányok tartománya, a differenciálódás minden lépése viszont lehetőségek széles körének kizárását jelenti. Minél szervesebb egy rendszer, annál inkább szűkíti a változási lehetőségek körét, továbbfejlődési tendenciái annál egyértelműbbé válnak, ami a fejlődési tempó felgyorsulásához vezet.

A komplexitás-növekedés fogalmi rendszerén belül értelmezhető az egyenlőtlen fejlődés ténye is, az, hogy a magasabb organizációs szintet képviselő formák az előző szint fejletlenebb differenciálatlanabb stádiumában alapozódnak meg. Az összetettebbé válás és a totalizáció részben egymást feltételező folyamatok. A struktúra-koherencia kibontakozásának egyik útja az a kerülőút, melynek során egy újabb alrendszer beépülése közvetíti a komponensek együttműködését. Az új részrendszerrel való kiegészülés lehetősége (és talán kényszere is) azonban csak a struktúra-koherencia kibontakozásának kezdeti szakaszaiban adott, amint elérte totalizációjának adott fokát, úgy látszik lezárul az összetettebbé válás útja. A morfológia hasonló összefüggést már régen megfogalmazott, azt ti. hogy a túlspecializált fajok fejlődésképtelenek. Tehát nem minden alakzat rendelkezik a továbbfejlődésnek ugyanazzal a potenciáljával. Az összefüggés általánosíthatóságához és a szerveződésmódra való visszavezethetőségéhez nagymértékben hozzájárultak a prokarióta és eukarióta sejt összehasonlításából leszűrt eredmények, amelyek világossá tették, hogy a kifejlett egyszerű sejt nem vált és nem válhatott semmilyen további integráció alapjává.

A kiépülő összetettebb szinteken belül módosulnak az evolúciós faktorok, az evolúciós mechanizmusok. Az összetettebb struktúrán belül egyrészt lehetőség nyílik az elemibb szint olyan változásaira, amelyek korábban akadályozva voltak, s fordítva, legátlódnak vagy háttérbe szorulnak korábban érvényesülő átalakulások. A pontmutáció nyilvánvalóan veszített evolúciós jelentőségéből más mutációtípusokhoz képest. Míg például egymás működését gátló gének együttlétezésére a soksejtű organizmusban lehetőség van (sőt éppen ezáltal feltételezett), ami arra az eredményre is vezethet, hogy a genetikai komplexitás növekedése a fenotípus egyszerűsödésében jelenik meg.

Mivel az élő — még legprimitívebb formájában is — szükségképpen rendszerjellegű létező, mind belső tagoltságát tekintve, mind azt, hogy egyben mindig egy átfogóbb rendszeren belül létezik, az evolúció végsősoron a totális rendszer vonatkozásában értelmezhető, még akkor is, ha „részek", sejtek, organizmusok, társulások fejlődéséről beszélünk. Tehát valamely részrendszer fejlődésének miléntje részben saját szerveződésmódjától, részben az átfogóbb

rendszerben elfoglalt helyétől, az átfogóbb rendszer egyéb komponenseihez való viszonyától függ. Ugyanakkor az egyes szintekből eredeztethető evolúciós faktorok nem egymás mellett léteznek, hanem közvetítik egymást. Az evolúció az egymásra épült szintek közvetítéshálózatában konkretizálódik.

Összefoglalás

A tanulmány egy olyan fejlődéskoncepciót körvonalaz, amelyben az evolúció az élő anyag strukturális fejlődéseként írható le. A struktúrafejlődés vagy komplexitás-növekedés két vonatkozást tartalmaz, a komponensek mennyiségi változását, és egymáshoz való viszonyuk, működésük kölcsönös feltételezettségének változását. A fejlődés tehát két alapvető folyamatban realizálódik, a struktúra összetettebbé válásában egyrészt, és koherenciájának növekedésében másrészt. Néhány példával — a sejt, az organizmus, a társulás, illetve a háttérstruktúra, a genetikai rendszer változásában — illusztrálva van, hogy milyen módon lehet a modellt konkretizálni.

IRODALOM

1. Bernstein, I. S. (1976) Dominance, agression and reproduction in primate societies. *J. Theor. Biol.*, **60**, 459—472.
2. Bush, G. L., Case, S. M., Wilson, A. C., Patton, J. L. (1977) Rapid speciation and chromosomal evolution in mammals. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, **74**, 3942—3946.
3. Cavalier-Smith, T. (1976) Long palindromes in eukaryotic DNA. *Nature*, **262**, 255—256.
4. Chalef, R. S., Carlson, P. S. (1974) Somatic cell genetics of higher plants. *Ann.Rev. Genet.*, **8**, 267—278.
5. Csányi, V. (1979) *Az evolúció általános elmélete.* Akadémiai Kiadó, Budapest.
6. Dancis, B. M., Holmquist, G. P. (1979) Telomere replication and fusion in eukaryotes. *J. Theor. Biol.*, **78**, 211—224.
7. Darnell, J. E. (1978) Implications of RNA-RNA splicing in evolution of eukaryotic cells. *Science*, **202**, 1257—1260.
8. Davidson, E. H., Galau, G. A., Angerer, R. C., Britten, R. J. (1975) Comparative aspects of DNA organization in metazoa. *Chromosoma*, **51**, 253—259.
9. Detre, Cs. (1979) Az elidegenedés és alkalmazkodás dialektikája. *Biológia*, **27**, 185—187.
10. Gánti, T. (1978) *Az élet principiuma.* Gondolat Kiadó, Budapest.
11. Géczy, B. (1979) *Az eltűnt élet nyomában.* Gondolat Kiadó, Budapest.
12. Gould, S. J., Eldredge, N. (1977) Punctuated equilibria: the tempo and mode of evolution reconsidered. *Paleobiology*, **3**, 115—151.
13. Grafodatszkij, A. Sz., Volobujev, V. T., Tyernovszkij, D. V., Radzsbli, Sz. I. (1976) G-okraszka hromoszom szemi vidov kunyih. *Zoologicseszkij Zsurnal*, **55**, 1704—1709.
14. Grant, V. (1977) Population structure in relation to macroevolution. *Biol. Zentrelblatt*, **96**, 129—139.
15. Harlow, H. F., Harlow, M. K. (1962) Social deprivation in monkeys. *Sci. Amer.*, **207**, 136—146.
16. Huxley, J. S. (1942) *Evolution: The modern synthesis.* London.
17. Itani, J. (1977) Evolution of primate social structure. *J. Hum. Evol.*, **6**, 235—243.
18. Katona, F. (1974) *Emberré válás.* Gondolat Kiadó, Budapest.
19. Kimura, M., Ohta, T. (1974) On some principles governing molecular evolution. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, **71**, 2848—2852.
20. Kozlov, A. P. (1979) Evolution of living organisms as a multilevel process. *J. Theor. Biol.*, **81**, 1—17.
21. Körös, E. (1972) A létfontosságú elemek fejlődésének biokémiai evolúciója. *Fiz. Szem.*, **29**, 50—58.
22. Kretzoi, M. (1976) Emberréválás és az australopithecinák. *Antropológiai Közl.*, **20**, 3—11.
23. Lorenz, K. (1977) *Válogatott tanulmányok.* Gondolat Kiadó, Budapest.

24. Riedl, R. (1977) A systems-analytical approach to macroevolutionary phenomena. *Quart. Rev. Biol.*, **52**, 351—370.
25. Rumpler, Y. and Dutrillaux, B. (1976) Chromosomal evolution in malagasy lemurs. *Cytogenet. Cell. Genet.*, **17**, 268—281.
26. Singh, L., Purdom, I. F., Jones, K. W. (1976) Satellite DNA and evolution of sex chromosomes. *Chromosoma*, **59**, 43—62.
27. Sparrow, A. H., Naumann, A. F. (1976) Evolution of genome size by DNA doublings. *Science*, **192**, 524—529.
28. Stanley, S. N. (1975) A theory of evolution above the species level. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, **72**, 646—650.
29. Strayer, F. F. (1976) Learning and imitation as a function of social status in macaque monkeys. *Anim. Behav.*, **24**, 835—848.
30. Újhelyi, M. (1978) Adalékok az evolúció-elmélet továbbfejlesztéséhez. *Biológia*, **26**, 3—23.
31. Vida, G. (1979) Az élet korai történetének rekonstrukciójáról. *Fiz. Szem.*, **29**, 45—50.

STRUCTURAL INTERPRETATION OF EVOLUTIONARY PROCESSES

Újhelyi, Maria

Institute of Marxism and Leninism, Semmelweis Medical University, Budapest, Hungary

A conception of evolution is suggested in which evolution is described as a structural development in living matter. Structural development i.e. increase in complexity involves two relations: 1. quantitative change of components, 2. furthermore, change in connection among parts of system, in their mutual functional dependence. Consequently, evolution realizes two fundamental processes, becoming more complex and more coherent in structure. Some instances — relation to cells, organisms, animal social systems as well as genetic ones as background structure — illustrate how this model can be given a concret form.

Biológia, **28**, 1980, 211—226

A MONONUKLEÁRIS FAGOCITÁK SZEREPE A GAZDASZERVEZET VÉDEKEZŐ MECHANIZMUSÁBAN I.

KÁVAI MÁRIA
Debreceni Orvostudományi Egyetem Tüdőgyógyászati Klinika
Általános Belgyógyászat, Debrecen

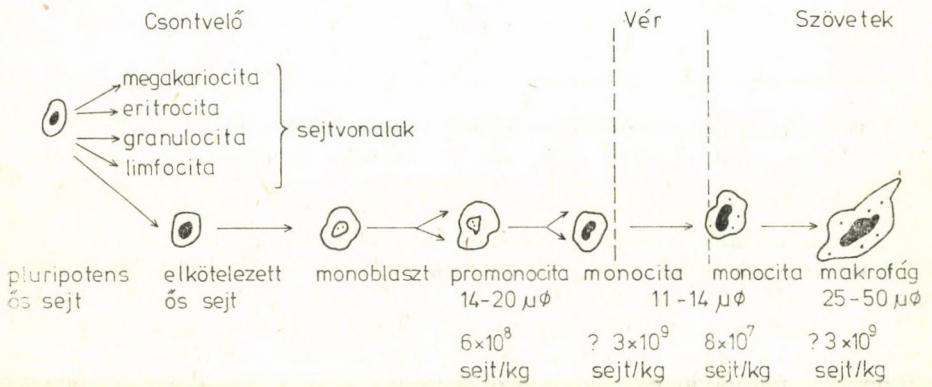
Beérkezett: 1980. május 5.

Kulcsszavak: monocita, makrofág, receptorok, heterogenitás, fagocitózis, citotoxicitás

A mononukleáris fagocita rendszer (MPS) a sejtek egy olyan csoportját alkotja, amely nagymértékben specializálódott primer funkciójára: az endocitózisra és a felvett anyagok lebontására. Endocitózis alatt értjük az anyagok bekebelezését fagocitózis és pinocitózis révén.

A MPS sejtjeinek érési folyamata, differenciálódása

Érési folyamatuk három fázisra osztható. Első fázis az érési periódus a csontvelőben. Az elkötelezett őssejtből monoblaszt és promonocita keletkezik. Két vagy három sejtosztódás után a promonociták monocitákká (Mo) érnek, amelyek gyorsan elhagyják a csontvelőt és a vérben keringenek. Ez a második fázis. Rövid idő múlva a szövetekbe vándorolnak, ahol makrofágokká (Ma) érnek (harmadik fázis). Aktív funkciót a test üregeiben és szerveiben fejtenek ki. Ide tartoznak a tüdő alveoláris makrofágjai, a máj KUPFER-sejtjei, a lép és a csontvelő szinuszoidjainak makrofág sejtvonalai, valamint a pleurális és peritoneális űr szabadon mozgó makrofágjai [22], ahogyan az *1. ábra* szemlélteti.



1. ábra A mononukleáris fagociták fejlődésének sematikus képe emberben
Fig. 1. Schematic representation of the human mononuclear phagocyte cell-live

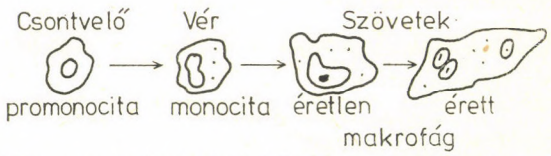
A vér monocitái a leukocitáknak csak 4—6%-át teszik ki, féléletidejük 8—22 óra. Random mozgást végeznek az intravaszkuláris térben. Általában nem inkorporálnak timidint, ellentétben a prekurzor promonocitákkal. Méretük meghaladja a többi leukocita méretét, 11—14 μm átmérőjűek, finoman diszperz nukleáris kromatin állománnyal rendelkeznek. Citoplazmájuk tele van kis azurofil granulumokkal. Ezek tartalmazzák a különböző hidrolitikus és oxidatív (eszteráz, peroxidáz, kataláz) enzimeket. Az ún. elsőrendű granulák megfelelnek a neutrofil leukociták azurofil granuláinak, a hidrolitikus enzimek még nem vettek részt az emésztésben. Az érett monociták másodlagos granulákat tartalmaznak, ezekből hiányzik a peroxidáz és az alkalikus foszfatáz [26].

A monociták az érfal bazálmembránján átjutva megtelepednek a szövetekben, szervekben, ahol szöveti makrofággá érnek. Az érés ideje alatt, ami kb. 4 nap, timidint inkorporálnak. Méretük megnő (20—24 μm átmérő), féléletidejük több, mint 60 nap. Lokális gyulladás alkalmával a monociták nagy számban vándorolnak ki az érpályából, és felhalmozódnak a gyulladás helyén, ahol szintén makrofágokká fejlődnek. Ugyanakkor az endoplazmatikus retikulumban, a Golgi komplex emésztő vezikuláiban és vakuoláiban nagy mennyiségű lizoszomális (hidrolitikus) és peroxidáz enzimet tartalmaznak [62].

A makrofágok klasszikus eredetén túl fejlődésüknek más útja is van. A hemopoetikus őssejtből származó sejtvonal mellett mezenchima eredetű makrofágok is keletkeznek. Ilyenek a retikulum sejtek, dendrit sejtek, fibroblasztok és endotel sejtek. Sok vonatkozásban hasonlóak az eredeti makrofágokhoz, de jellegzetes morfológiai, citokémiai, valamint funkcionális különbséget mutatnak [34].

A monociták érése során funkcióik nagysága, receptoraik száma megnő. Ezt szemlélteti összefoglalóan a *2. ábra* Cline és Golde [12] szerint. Feltehe-

Proliferáció	++++	+-tól +++	++	0
Fagocitózis	±	+	+++	++++
Adherencia	+	++	+++	+++
Lizoszómák	+	++	++++	++++
IgG receptorok	+	++	+++	+++
Limfocitával való kölcsönhatások	?	++	++++	++++



2. ábra A mononukleáris fagociták jellegzetes sajátságainak fejlődése érésük folyamán

Fig. 2. Development of certain functional characteristics of mononuclear phagocytes with maturation

tően a monociták folyamatos érésével kapcsolatos, hogy a humán vér monocitái nem egységesek. A nagy monociták mellett 20—40%-ban kis monociták fordulnak elő. Méretük alapján monocita alosztályokat különböztetünk meg [2]. A sejtek érése mellett aktiváltsági állapotuk [14] a másik tényező, ami befolyásolja az egyes tulajdonságok megjelenésének mértékét. Az aktiválás különböző módjával egy következő összefoglalóban foglalkozunk, amelyben a MP-knak a limfocitákkal (Ly) való kölcsönhatását vizsgáljuk, mivel az aktiválásnak egyik lényeges lehetősége éppen ezen kölcsönhatás eredménye.

A Mo és Ma sejtek identifikálása jellegzetes tulajdonságaik alapján történik, fagocitáló készségük és speciális festődésük révén. Fagocitálandó anyag lehet neutrálvörös vagy 1 μm-nél nagyobb partikula, pl. latex. Speciális festések közül legalkalmasabb a nem specifikus eszteráz festés [39].

A MPS szerepe

A mononukleáris fagocita (MP) sejtek 3 jól körülhatárolható szerepe ismert.

A) Védekeznek a mikroorganizmusokkal, gombákkal, vírusokkal és parazitákkal szemben. Itt jön előtérbe a fagocitáló képesség, és ezzel kapcsolatban a felületi nem specifikus és specifikus receptorok működése. A specifikus receptorok megkönnyítik az idegen anyagokkal való érintkezést, és így elősegítik a bekebelezést. Mint látni fogjuk, a MP-k eplusztítják a bekebelezett organizmusokat részint a levegő oxigénjét igénylő, részint oxigéntől független folyamatok révén.

B) Összegyűjtik és eltüntetik a károsodott sejteket és sejttörmelékeket. E képesség következtében tűnnek el a sérülések, és válik lehetővé az embriogenezis folyamán a szövetek újraképződése. Ide sorolható a saját sejtekkel szembeni reakció, citosztatikus és citotoxikus hatás révén.

C) A harmadik jelentős szerepe a limfocitákkal való kölcsönhatás az immunválasz kialakításában. Részben az antigénre adott válasz indukciójában, az immunválasz afferens ágán, részben az immunválasz kifejlődésében, az efferens ágon fejtik ki hatásukat.

Jelen munkában az MPS sejtjeinek az A és B pontban felsorolt szerepét és az ezeket befolyásoló tényezőket tekintjük át.

A) MPS sejtjeinek szerepe az idegen anyagok eltávolításában

A humán monociták és makrofágok fagocita tulajdonsága sok szempontból hasonló a granulocitákéhoz. Metabolizmusuk és mikrobicid, viricid aktivitásuk kevésbé tanulmányozott, ami a sejtek szeparálási nehézségével magyarázható. Humán vonatkozásban a vér monocitáit, valamint a tüdő átöblítésével vagy sebészeti anyagából kapott makrofágjait vizsgálták. A MPS sejtjeinek funkcióit főleg állatkísérletekből ismerjük.

A védekező funkciót vizsgálva azt látjuk, hogy *in vivo* ennek bevezető mozzanataként egy adott hívójelre — kemotaktikus ingerre — a monociták kilépnek az érpályából, és a gyulladás vagy az immunológiai reakció helyére vándorolnak (migráció, kemokinézis, kemotaxis). Ezt követően a sejt érintkezik az idegen anyaggal (adherencia), majd a sejtek szétterülnek (spreading), körülveszik a bekebelezendő anyagot. A szétterült sejtforma kialakulása a citoplazma organizációjának átrendeződésével jár együtt, ami megkönnyíti az endocitózist. Az átrendeződés energiaigényes folyamat, az oxidativ átalakulások inhibitorai, valamint mitotikus inhibitorok az átrendeződést, a megfelelő sejt-organellumok kialakulását gátolják [10, 81]. Végül a sejt fagocitálja az idegen anyagot. GERGELY *Immunbiológia* című könyvében [25] adott felosztás szerint öt egymásba folyó lépésre tagolhatjuk a fagocitózist: *1.* az idegen anyag felismerése, a sejtfelülethez való kötődése; *2.* a bekebelezés folyamata;

3. az emésztő vakuoláknak az elsőrendű lizoszomális granulákkal való fúziója; 4. a fagolizoszómában a lizoszomális enzimek felszabadulása és az oxidációs metabolitok keletkezése; 5. a lebontott anyagok, az enzimek és a metabolitok exocitózisa, a környezetbe kerülése.

1. A felületi receptorok szerepe

Az idegen anyag és a sejt közötti szoros kapcsolat kialakulása lényeges előfeltétele a fagocitózisnak, amit a specifikus és a nem specifikus receptorok tesznek lehetővé. A receptorok rendelkeznek azzal a felismerési képességgel, ami megkülönbözteti az idegent a sajáttól. A felismerés — mint pl. a baktériumok sejtfalának a felismerése — megvalósulhat a partikula szénhidrát komponensének megkötése révén. A másik lehetőség a hidrofób molekulák kölcsönhatása, ami az idegen partikula és a fagocita-sejtmembrán foszfolipid rétege között jön létre [89].

A sejtmembrán lipidekből, proteinekből, oligo- és poliszacharidokból épül fel. A foszfolipidek kettős rétegébe beágyazott fehérjék tartják feszesen a membránt. A sejt felszíne felé mutató peptidláncok gyakran szénhidrátkomponenst tartalmaznak. Ezek a glikopeptidek nem specifikus receptor funkcióval rendelkeznek. A periférián levő membrán-proteinek elmozdulhatnak a belső membrán-proteinekkel való ionos kötésből. Laterális mozgásuk eredményezi az előzetesen rendszertelenül elhelyezkedő receptorok petty- vagy sapkaképződését, ami elősegíti a fagocitózist. A citoplazmában levő mikrotubulusok a mikrofilamentumokkal együtt szabályozzák a fagocitózist, a migrációt, a sejt felületi receptorok eloszlását és mobilitását. A receptorok átrendeződése a mikrotubulusok diszrupcióját feltételezi. A mikrotubulusok organizációjának helyreállása cGMP-t igényel, aminek eredményeként a receptorok immobilizálódnak. A cGMP szint növelése gátolja a receptorok mobilitását, meggátolja a sapkaképződést [65].

A különböző gátlási és enzimatikus kísérletekből arra lehet következtetni, hogy a makrofágok plazmamembránján levő kötőhelyek főleg glikoproteid természetűek, bár a fehérje-, zsír- és szénhidrát-bontó enzimek mind csökkentik a kölcsönhatást. A kötés a membrán glikopeptid reziduumának OH-csoportja és a baktérium sejtfal szénhidrát csoportja között jön létre, feltehetően Ca^{++}-hídon keresztül.

A sejtek neuraminidázzal való kezelése fokozza az idegen anyagokkal való érintkezést. Ezt a hatást az magyarázza, hogy a neuraminidáz megszakítja a glukozidos kötést a sziálsav és a mukopoliszacharidok, glikoproteidek és glikopeptidek között. Ezen tulajdonságánál fogva növeli a partikulák adherenciáját a makrofág membránhoz és elősegíti a bekebelezést. Ezen túlmenően a neuraminidáz lehasítja a neuraminsavat a sejt felszínéről, így csökken a makrofág negatív töltése, ezáltal a negatív töltésű baktérium közelebb kerülhet a sejt felszínéhez [48]. Hisztonok, bázikus polianionok szintén a töltéskülönbség fokozása alapján elősegítik a makromolekulák, így a vírusok felvételét. A heparin átmenetileg csökkenti a fagocitózist a sejtfelület negatív töltésének fokozása révén [7].

A membrán szénhidrát komplexei információ gazdag vegyületek, az idegen anyag felvétele mellett szerepet játszanak a sejt—sejt közötti rakció kialakulásában is. Egy régi felismerés igazolódik be, az hogy a glikozil-transzferáz és szubsztrátja felelős az intercelluláris adhézióért. Ez az enzim katali-

zálja a monoszacharid átalakulását monoszacharid-nukleotid származékon keresztül oligoszacharid akceptorrá. Működéséhez 2 értékű ionra van szükség. Ez magyarázhatja a sejtek közötti reakció Mg^{++}-igényét. A sejtek között kialakuló kötést van der Waals erők hozzák létre, ami a legmagasabb értéket akkor éri el, ha a sejtfelület szénhidrát komponensei vesznek részt az elméletileg számított reakcióban [63]. Így a makrofág—limfocita kölcsönhatás 2 értékű ionok jelenlétét igényli. Valószínű, hogy hasonló típusú reakció jön létre a makrofág- és a tumorsejtek, valamint a vírus transzformálta sejtek között. Ez a kölcsönhatás hozzájárul a sejt proliferáció, szövetregenerálódás és a tumor-sejtek növekedésének kontrollálásához [86].

A MP jellegzetes specifikus receptorokkal rendelkezik [25]. A Ma sejtmembránnak jellegzetes képessége az immunglobulinok (Ig-ok) megkötése. A reakcióban az Ig molekulák Fc szakasza vesz részt, ez vezetett az Fc-receptor (FcR) elnevezéshez [37]. A humán monociták és makrofágok felületén levő FcR-ok számban és kötéserősségben különböznek egymástól a makrofágok javára. A humán Ig 4 alosztálya közül az IgG1 és IgG3 kötődik erősen. Az IgA alig kötődik, míg a 7S és 19S IgM-et a humán alveoláris makrofágok kötik. Az egér és patkány makrofágjai mindkét molsúlyú IgM-mel reakcióba lépnek, a tengerimalac alveoláris makrofágok a 7S IgM-mel reagálnak. A humán monocitákon legújabban speciális módszerrel sikerült IgM receptort kimutatni, amelyek száma neuraminidáz kezelés után fokozódott [30]. Újabban IgE kötőreceptorokat is kimutattak monocitákon. Heterológ rendszerben a humán IgG-ok tengerimalac makrofágokhoz kötődnek jól, a nyúl IgG pedig a tengerimalac és humán makrofágokhoz [47, 52], aminek kísérleti szempontból van jelentősége. Az IgG szerkezetkutatásának előrehaladtával 1973-ban kimutatták, hogy az Fc-lánc CH3 régiója az, amely a receptorral való kölcsönhatásban részt vesz [83].

A makrofágokhoz kötődik az IgG monomer formában, ennél 7-szer jobban kötődik ugyanaz az IgG aggregált formában (19S), és 20-szor jobban antigénnel alkotott komplex formában. Az alkalmazott komplex kétszeres ellenanyag (At) feleslegben készült, és szedimentációja 12—19 S volt. A kötéserősségben mutatkozó differencia alapján az oldott immunkomplexek (IC) a sejtekhez kötött aggregált IgG-t a receptorról leszorítják [43]. Shynomiya és Koyama [76] nagy jelentőséget tulajdonítanak a komplexben levő At és antigén (Ag) aránynak az FcR-hoz való kötődés erőssége szempontjából. Az ellenanyagban levő diszulfid hidak megbontása az IC kötődését erősen csökkenti.

Az IgG és FcR kölcsönhatást befolyásolja a közeg pH-ja, ionerőssége, 2 értékű ionok jelenléte, a hőmérséklet és az állatok neme.

Nyúl alveoláris makrofágokon levő FcR-ok száma megközelítőleg $0{,}5—1 \times 10^6$ [3], de ez a szám — ugyanazon sejtféleség esetén is — függ a sejt aktiváltsági fokától. Az FcR enzimérzékenységével kapcsolatban ismert a tripszinnel szembeni rezisztenciája. Proteolitikus enzimek emelik az FcR aktivitását.

A glikoproteidek részleges eltávolítása a receptorok reorientációjával jár, a lipoproteidek enzimatikus kezelése (foszfolipáz C-vel) a kötőhelyek számát csökkenti, de a sejt destrukciójához is vezet. Főleg ezen két felületi komponensre vonatkozó kísérletek száma fokozódott. Először arra következtettek, hogy az FcR lipoproteid, később inkább glikoproteidnek tartották [1]. Legújabban az IgG alosztályokat különbözőképpen kötő FcR-ok enzimatikus

kezelése alapján úgy gondolják, hogy vannak liporoteid és vannak glikoproteid természetű FcR-ok.

Az elmúlt években számos különböző sejttípuson figyeltek meg FcR tulajdonságot, különösen az immunválasz kialakulásában részt vevő és egymással kölcsönhatásban levő sejteken, így limfocitákon, PMN sejteken, trombocitákon, epiteliális sejteken.

Az FcR-t hordozó sejtek felületéről izolált, Fc-kötő tulajdonsággal rendelkező molekulák vagy fragmentek molekulasúlyát meghatározták, és ezt 15 000-től 70 000 daltonnak találták. Bourgois és mtsai [8] szerint az FcR 120 000 dalton molekulasúlyú polipeptid lánc, és a molsúlyra vonatkozó korábbi adatok ennek a molekulának proteolitikus fragmentjeiből származtak. A fragmenteket az eredeti molekulában diszulfid-hidak kapcsolják össze. Makrofágszerű tumorsejtekből 57 000, 28 000 és 24 000 dalton molsúlyú, FcR tulajdonsággal rendelkező frakciókat izoláltak [53]. Újabban humán mononukleáris fagocitasejtekről is hasonló, 60 000 molsúlyú FcR-t izoláltak [16], ami lehetséges, hogy egy 120 000 molsúlyú dimer formából a diszulfid-híd megbontása révén keletkezett.

Az FcR-ok heterogenitása megnyilvánul egyrészt a ligandummal való reakcióban. Így az FcR-ok különbözhetnek ugyanazon IgG megkötésének erősségében [82], az IgG egyes alosztályai iránti érzékenységükben, és a kötött IgG által létrehozott reakció milyenségében [85]; a megkötött IgG által elősegített reakció fagocitózishoz vezethet, vagy citotoxicitást indukálhat. Másrészt az FcR heterogenitását okozhatja az FcR különböző expressziója a MP sejtek felületén, amit fiziológiásan a következő tényezők befolyásolnak:

a) A sejt érése során az antigéntulajdonsággal együtt változik, illetve nő az FcR expresszió [23, 49]. Valószínűleg a sejt érésével kapcsolatos, hogy az emberi vérben különböző nagyságú monociták fordulnak elő. A nagy monociták FcR pozitívak, a kicsik FcR negatívak [64]. Hasonló heterogenitást észlelt Walker [84] nyúl makrofágok között.

b) Sejtproliferáció során az S-fázisban az FcR expresszió alacsonyabb, mint a G-fázisban [69].

c) Fagocitózis alatt a receptorok befelé fordulnak, de néhány óra múlva újra megjelennek [44, 75].

d) A membránról vezikulák fűződhetnek le természetes úton, de főleg környezetváltozás következtében, így az FcR expresszió csökken, majd 6—8 óra múlva helyreáll [46, 74].

e) Az FcR megjelenése genetikusan determinált [88], vannak olyan egértörzsek, amelyeknek makrofágjai igen kevés FcR-t hordoznak.

f) Az MP sejtek aktiváltsági foka erősen befolyásolja az FcR expresszsiót [14].

A mononukleáris fagociták felületén van egy másik jelentős receptor, ez az aktivált C3 komplement komponenst köti meg [38, 50]. A komplement aktiválás klasszikus és alternatív útja révén keletkezett C3b kötődik a szenzibilizált vvs-hez, vagy a II típusú pneumococcus sejtfalhoz [90] kis mennyiségű At jelenlétében. A szenzibilizáló At lehet IgG vagy IgM. A C3b inaktivátor, amely a szérumban jelen van, a C3b-t C3d-vé alakítja, a komplexnek gátolja a C3b receptorhoz való kötődését. A receptor helyek száma még nem tisztázott. Makrofágokon kívül más sejteken, pl. limfocitákon is előfordulnak.

Az Fc és C3b receptor nemcsak lokalizációjában [35] és specifitásában, hanem enzimérzékenységében (a C3b receptor tripszin érzékeny) és működésé-

nek módjában is eltérő. Mindkét receptor a sejt felületi membránban mozoghat, KAPLAN és mtsai [41] szerint a két receptor között a fluiditásban is eltérés van, az FcR mozgékonyabb.

Ezen két fő receptor mellett egyéb felületi receptorok is léteznek. Így ismerjük a hisztamin receptort, hormonok, lektinek, vírusok receptorait, amelyek szerepe a megfelelő vegyületek megkötésében és endocitózisában rejlik. A makrofágoknak a migrációgátló hatású limfokinnel való kölcsönhatását a fukozidáz specifikusan gátolja, így feltehetően a sejt felületi fukóz tölt be ebben a reakcióban receptor funkciót.

2. A bekebelezés folyamata

Az Fc és C3b receptorok alapvető funkciója az idegen anyag bekebelezésének megkönnyítésében nyilvánul meg. Míg az FcR a bekebelezés folyamatában vesz részt [66] és működése fiziológiás körülmények között kedvező, addig a C3b receptor a komplex és a sejtmembrán érintkezését, az adherenciát segíti elő [55], és működése a hőmérséklet esésére kevésbé érzékeny. A C3b befolyásolja a részecske kötődését anélkül, hogy direkt módon fokozná a bekebelezést [20]. Ha az IgM tartalmú IC a C3b révén kötődik, ez a kötés nem vezet a komplex fagocitózisához, a komplex a membrán felületén koncentrálódik. Az IgG tartalmú komplex az Fc receptorhoz kötődve bekebeleződik. Legújabban viszont azt találták, hogy a C3b receptornak a bekebelezési folyamatban is van jelentősége [79].

Az Fc és C3b receptortól függő fagocitózis együttesen eltér az ezen receptoroktól független fagocitózistól [58], amit az bizonyít, hogy az előbbi, az Fc és C3b által befolyásolt fagocitózis, 2-dezoxiglukózzal szelektíven bénítható. A gátlás történhet a celluláris ATP termelésre való hatáson keresztül, így az anyagcsere szabályozásán keresztül, de valószínűbb a másik lehetőség, hogy a kontraktilis fehérjék, az aktin és miozin, és a receptorok közti kapcsolatot befolyásolja.

A továbbiakban már alig van különbség az egymást követő reakciókban abból a szempontból, hogy az endocitózist megelőző érintkezési periódusban specifikus vagy nem specifikus receptor vett-e részt [40]. GRIFFIN és SILVERSTEIN [27] szerint egy részecskének a felvétele nem jelent általános fagocita ingert, ami egyéb részecske felvételét is megkönnyítené. A fagocita inger egyetlen plazma membránszakaszra korlátozódik, amely a kérdéses részecskét fel is veszi, de ehhez a felületen levő receptorsor részvétele szükséges. Ezt nevezik „cipzár"-mechanizmusnak [28].

Az endocitózist befolyásoló tényezők között jelentős szerepe van a sejtmembrán szerkezetének. A plazma membrán 5'-nukleotidáz aktivitása elsőrendű jelzőrendszerként szerepel. Az idegen anyaggal való érintkezés hatására ez az enzim a sejtbe vándorol és részt vesz a fagoszóma-membrán kialakításában. Másrészről az érintkezés beindít egy energiaigényes membránműködést, amit a membránban jelenlevő ATP-áz működését igényli. A hőmérsékletcsökkenés nem kedvez a bekebelezésnek.

A felületi receptor funkciók összefüggésbe hozhatók a sejt intracelluláris cAMP és cGMP szintjének változásával. Az FcR-független fagocitózisra — így pl. a zimozán, a *Candida albicans* partikula, valamint a paraffinolaj felvételére — a cAMP szint növekedése gátló hatással van [15]. Az FcR irányította fagocitózist illetően ATKINSON és PARKER [6] úgy találta, hogy a cAMP- és cGMP-

antagonisták nem vagy csak kevéssé hatásosak. Ugyanakkor MUSCHEL és mtsai [61] szerint az FcR aktivitás az intracelluláris cAMP szint növelésével fokozódik. Legújabban RAGSDALE és AREND [67] felveti annak lehetőségét, hogy az FcR okozta fagocitózis az FcR-tól független fagocitózishoz hasonlóan cAMP szint növekedést indukál, ami „feedback" mechanizmus révén gátolja a további fagocitózist. Így a cAMP intracelluláris induktorai (mint pl. az izoproterenol, PGE_1 vagy a 8Br-cAMP) az FcR aktivitást és az általa befolyásolt fagocitózist csökkenti.

A monociták FcR aktivitását fokozza az interferon és az interferon termelését indukáló ágensek, így a Newcastle betegség vírusa, a vesicularis stomatitis vírus, a tiloren vagy a poliinozit-policitidilsav [32]. Az interferon emellett fokozza a peritoneális makrofágok spreading-jét — szétterülő képességét — és specifikus receptortól független fagocitózisát is. Hasonló FcR aktivitás fokozó hatása van a lipopoliszacharidoknak és a BCG-nek is [70].

A citokalazin érzékeny membránstruktúrák, legfőképpen a mikrofilamentumok, jelentős szerepet játszanak az FcR által befolyásolt reakciókban [57]. A citokalazin-A és -E irreverzibilis, a -D és -B reverzibilis gátlást okoz, csökkenti az FcR átrendeződését, vagy direkt módon gátolja a liganddal való kölcsönhatást [73]. A mikrotubuláris rendszerre ható vinblasztinnal és kolchicinnel a reakció csak kismértékben gátolható [6].

Az FcR és IgG kölcsönhatást gátolják a szulfhidril csoportokat blokkoló anyagok, a gyógyszerként használt hormonok közül pedig a kortikoszteroid és az inzulin [4].

Az emberi megbetegedések közül sarcoidosisban [18, 24] emelkedett, systemás lupus erythematosus (SLE)-os betegekben pedig csökkent a HMP sejtek FcR aktivitása [22]. Ha az SLE-os betegek monocitáinak FcR aktivitását *in vitro* figyeljük meg, ez a csökkenés nem észlelhető, feltehetően *in vitro* eltávolítottunk egy olyan komponenst, ami *in vivo* gátolta a receptor funkciót [45].

A C3b receptorra a cAMP és cGMP-nek, illetve ezen anyagok intracelluláris szintjében mutatkozó változásoknak nincs hatása. A membránt befolyásoló ismert anyagok, így a heparin, dimetilszulfoxid sem hat a C3b receptor (C3bR) aktivitásra [7]. Eddig leghatásosabbnak a mikrofilamentális rendszert befolyásoló anyagok, a citokalazin vegyületcsoport mutatkozott. A vinblasztin és kolchicin szintén gátolta a C3bR aktivitást [5].

Összefoglalva: a bekebelezés szabályozásában központi helyet foglalnak el a cAMP-vel kapcsolódó reakciók. A receptoroknak a liganddal való reakciója aktiválja az adenilcikláz (AC) enzimet, ami elősegíti az ATP-ból a cAMP keletkezését. A cAMP felszaporodás a fagocitózis velejárója, a felszaporodott cAMP feedback-mechanizmus alapján szabályozza a bekebelezést, a lizoszomális enzimek és oxidációs metabolitok keletkezését és az exocitózist. A cAMP szintre ható, béta-adrenerg receptor stimuláló anyagok központi szerepet töltenek be a fagocitózis szabályozásában.

A sejtmembrán közelében elhelyezkedő mikrotubuláris rendszer felelős a sejt alakjáért. A mikrotubuláris rendszer diszrupciója viszont megkönnyíti a receptorokra ható anyagok, hormonok, gyógyszerek AC-re való hatását, ezáltal érzékenyebbé teszik a cAMP stimulálhatóságát [39]. Ezt a hatást létrehozza a kolchicin, a vinblasztin és az intracelluláris Ca^{++} szint fokozása révén a mikrotubulusokra ható ionoforok. Legújabb megfigyelések szerint a sejtek kemotaxisa során is keletkeznek oxigén metabolitok, amelyek szintén a cAMP kontrollja alatt állnak [77]. Így a cAMP a szorosan vett fagocitózishoz tartozó

folyamatokon kívül az azt megelőző folyamatokban, a kemotaxisban is irányító szerepet tölt be.

A mikrofilamentáris rendszer befolyásolja a sejt receptorok és a ligandumok kölcsönhatását, a receptorok redisztribucióját, valamint az endocitózist, a bekebelezés folyamatát. A citokalazin — megbontva a mikrofilamentáris rendszert feltehetően az aktinra való közvetlen hatás révén [9] — gátolja a vele kapcsolatos reakciókat. A mikrofilamentáris rendszer a szorosan vett fagocita folyamatokon kívül hat a migrációra és a kemotaxisra is.

3. A fagolizoszómák kialakulása

A bekebelezés lényeges morfológiai lépése az endocitotikus vakuoláknak a kialakulása és ezeknek a primer és szekunder lizoszómákkal való fúziója, ami a bekebelezett anyagok és a lizoszomális enzimek stabil kölcsönhatásához vezet. Ha a fenti fúzió elmarad, a baktérium lebontása nem következik be. Ilyenkor a fagoszómában pl. virulens tuberculosis bacillusok, életképes toxoplazma található. Más mycobacteriumok, pl. a *Mycobacterium lepromurium* azért élnek és szaporodnak a monocitában, mert kapszulájuk ellenáll a lizoszomális enzimek hatásának. A *Leishmania donovani* túlélése és szaporodása az MP sejtekben úgy megy végbe, hogy a protozoa amasztigota formában él a fagoszóma-lizoszóma fúzió után [11].

4. A bekebelezett anyagok elpusztítása

A humán monociták — hasonlóan a granulocitákhoz — két alapvető mechanizmus révén ölik meg a mikroorganizmusokat. Egyike ezeknek az oxidatív metabolizmushoz kapcsolódik, a másik a lizoszomális enzimek közreműködésével játszódik le. A partikula bekebelezése elindítja a sejt fokozott oxigén felhasználását, az O_2 metabolitok, valamint a kemolumineszcens anyagok termelését, és fokozódik a glukóz oxidáció a hexóz-monofoszfát söntön keresztül. A bakteriális „killing"-ben legfontosabb a négy O_2 metabolit szerepe: O_2^- (a szuperoxid), továbbá a H_2O_2, valamint az OH^- és $^1O_2$ (a szinglet oxigén). Ezek egymásután keletkeznek, PMN-okban az első két termék a döntő [87], MPS-sejtekben ezek prekurzoroknak tekinthetők és a két utóbbi a hatásért felelős termék [60].

Van olyan antimikróbás aktivitás, amely ezen anyagok direkt hatásaként jelentkezik. De ez a hatás fokozódik a H_2O_2-nak a peroxidatív enzimekkel való reakciója, így a mieloperoxidáz révén [56]. A monocitákban fellépő mieloperoxidáz-hiány a monociták szelektív fungicid aktivitásának csökkenésével jár. A krónikus granulomatosus betegségben szenvedők monocitái károsodott baktericid és fungicid aktivitást mutatnak. Az emberben észlelt monocita funkció károsodások támasztják alá, hogy a primer oxidativ válasz (krónikus granulomatosus betegségben kóros), a peroxidativ folyamat (mieloperoxidáz deficiencia) és a normál degranuláció (Chediak—Higashi szindróma esetén kóros) vesz részt az egészségesek monocitáinak mikrobicid mechanizmusában. Alveoláris makrofágokban a peroxidáz aktivitás hiányzik. Itt a kataláz képes a H_2O_2-ot képző rendszerrel kombinálódni, vagy más esetben peroxidáz-szerű enzimet tartalmaznak a sejtek.

Emellett a makrofágok is tartalmaznak fagocitint, lizoszomális kationos proteineket, lizozimet, citromsavat és kimotripszinszerű anyagokat, amelyek mind részt vehetnek a bekebelezett anyagok elpusztításában.

5. Az exocitózis folyamata

A MP sejtek szükségszerűen megjelennek a gyulladások helyén, pl. Arthus reakcióban, szérumbetegségben kialakuló arteritisben, At okozta nephritisben. A fagocitózis során felszabaduló toxikus oxigén metabolitok egy része hasonlóan a lizoszomális enzimekhez kijut a sejt környezetébe (exocitózis), és beleszól a gyulladásos szövetkárosodások kialakulásába. Az oxigén metabolitok gyulladáskeltő hatását az oxigén képződését szabályozó anyagokkal befolyásolhatjuk. Így metilprednizolon, prednizolon gátolja az oxigén fejlődését, a cAMP szintet növelő anyagok (prosztaglandin-E_1 és -E_2, hisztamin) csökkentik az oxigén hatását, különösen teofilinnel kombinálva. A kortikoszteroidok gyulladásgátló hatása részben azon alapul, hogy redukálják az oxigén metabolitok fagocitózis során való felszabadulását azáltal, hogy redukálják a HMP-sönt és a NADH-oxidáz aktivitását, így az O_2^- termelést [51]. A monociták érzékenyebbek a cAMP felszabadulásra, mint a neutrofilek, míg a szteroidokkal az utóbbiak O_2^- felszabadulása gátolható jobban.

Hogy a kortikoszteroidok és a cAMP hatása hogyan függ össze, az nem tisztázott. Feltehető, hogy mindkettő az oxigén anyagcsere szintjén hat a légzőfunkció valamelyik enzimére. Az intracelluláris cAMP felhalmozódás *in vivo* negatív feedback mechanizmus alapján természetes gátja lehet a gyulladásos területek kiterjedésének és intenzitásának.

A szuperoxid anion káros hatását csökkenti a szuperoxid dismutáz (SOD), a kataláz, valamint Na-azid. Rheumatoid arthritises gyermekek PMN sejtjei kevesebb SOD enzimet tartalmaznak; ezzel lehet magyarázni, hogy a felszabaduló O_2^- kijutva a sejt környezetébe mellékhatásként szövetkárosodást okoz [71]. Megjegyzendő, hogy a fagocitózison kívül a monociták különböző aktiválása után is megfigyelhető az oxigén metabolitok felszabadulása [33].

B) A MPS reakciója a gazdaszervezet sejtjeivel szemben

Az MP „effektor" sejtként elpusztítja a célsejtet (target sejtet) az eddig felsorolt képessége alapján. Az MP sejtek citosztatikus hatása a target sejt DNS szintézisének gátlását okozza, ami különösen gyorsan osztódó sejtek felé érvényesül, a citotoxikus hatás a target sejt lízisét eredményezi. A vvs-ek ellen fellépő citotoxikus hatás a specifikus citotoxinok jelenléte esetén érvényesül, ez az ún. antitest közvetítette citotoxicitási (ADCC)-reakció, amit Douglas és Huber [17] írtak le először. A monocita FcR-a révén köti meg a felületén az IgG_1-gyel és IgG_3-mal szenzitizált sejteket, illetve C3b receptora révén az IgM-mel és C3b-vel szenzitizált sejteket. Autoimmun hemolitikus anémiában szenvedő betegekben az IgG típusú anti-D, anti-A, anti-B és egyéb alloantitestek szenzitizálják a vörösvérsejteket, és ezek a monociták FcR-aihoz kötődnek. A lépben lokalizálódó MP sejtek felelősek elsősorban a vörösvérsejtek eliminálódásáért. Emberben a vvs eltűnését fagocitózissal magyarázták. Fleer és mtsai [21] felvetik, hogy a destrukciót a MP sejtekből kiáramló lizoszomális enzimek okozzák anélkül, hogy a vvs-eket a makrofág fagocitálná. A lizoszomális enzimfelszabadulás nem általános, csak a sejt egy szakaszára, egyetlen sejtfelületre lokalizálódik és a vvs kötődésére jön létre.

Újabban az az elképzelés, hogy az ADCC-reakciónak két egymástól független módja lehetséges. Az egyik az, hogy a vvs-et fagocitálja a Ma és a target

sejt lebontásában az O_2-metabolitok vesznek részt. A másik lehetőség az extracelluláris citotoxicitás (killing), a célsejt bekebelezés nélkül pusztul el, amiben az O_2-metabolitoknak nincs szerepe [42]. Feltehetően a körülmények szabják meg, hogy melyik mód érvényesül. Kísérletesen bizonyított, hogy a fagocitózis bénítása esetén a célsejt extracelluláris lízise következik be [68], amiben a makrofágokból felszabaduló fehérjék, enzimek, feltehetően neutrális proteázok vesznek részt.

A humán vér különböző nagyságú monocitái közül a nagy monociták rendelkeznek azzal a képességgel, hogy effektor sejtek legyenek az ADCC-reakcióban [64].

Humán MP sejtek ezen effektor funkciója kevésbé érvényesül, ha a target sejt szerepét magvas emlőssejt tölti be. Ellenben aktivált állapotban hatásos effektor sejtként működnek, részt vesznek malignus sejtek elpusztításában. A tumor sejt lízise akkor jön létre, ha a tumor sejt és a makrofág között allogén viszony áll fenn, ellenkező esetben (szingén) citosztatikus hatás alakul ki, a tumor sejtek elvesztik a sejtproliferációhoz szükséges vitálkapacitásukat. A MP sejt és a tumor sejt közötti kapcsolat kialakulását befolyásolja a tumor sejt ellen termelődő At jelenléte. Ha a tumor sejtet beborítja az ellene képződött specifikus At, akkor ez a makrofág FcR-án keresztül megkönnyíti a két sejt közötti érintkezést. Viszont a tumor sejt felületén is lehet FcR, ami IgG-t köt. Az ellenanyag és a tumor sejt arányától függően az IgG beboríthatja a tumor sejt felületét, ezáltal elfedi a makrofág elől és az sajátként ismeri fel. Emellett a tumor sejtek által termelt anyagok gátolják a Ma aktiválódását, csökkentik a védekezésben játszott szerepét. A vvs-ekkel szemben érvényesülő citotoxikus hatás fenti lehetséges két módja a magvas sejtekkel szemben is hasonlóan nyilvánul meg.

A humán Ma vagy a Mo el tudja pusztítani az At-tel nem fedett, nem szenzitizált egyedből származó célsejtet [36]. Felvetődött annak lehetősége, hogy a „natural killer" sejtnek nevezett és NK-val jelölt, limfocitának gondolt sejtek a vérbe kis számba bekerülő promonociták lennének, amelyek még nem rendelkeznek monocitára jellemző tulajdonságokkal [54].

A makrofág-alloantitest-target sejt kölcsönhatás az allograftok rejekciójában is szerepet játszik. A makrofág hatása 3 reakción keresztül érvényesülhet az allogrfattal szemben: fagocitózis, ADCC-reakció és citosztatikus reakció, amelyek közül az első a legjelentősebb [31].

Újabb vizsgálatok szerint a MP sejtek funkciói fiziológiásan a lép ellenőrzése alatt állnak [78]. A lép szerepe érvényesülhet az általa termelt humorális vagy hormonális aktivátorokon és inaktivátorokon keresztül, vagy a lép által termelt sejtek egyik fajtája rendelkezik szupresszor funkcióval a MP sejtekkel szemben.

A MPS rendellenes fagocita működése emberben

A MP sejtek képezik az alapvető celluláris védekezést az intracelluláris patogén baktériumokkal, gombákkal és más intracelluláris kórokozókkal szemben. Pl. a Ma-ok megölik vagy limitálják a növekedését a *Mycobacteriumok*nak, *Salmonellák*nak, *Listeria*nak, *Cryptococcusok*nak, *Toxoplasmá*nak, *Malaria plasmodium*nak. A védekezés a fagocitózison és a mikroorganizmus

megölésén keresztül érvényesül, de beletartozik mindaz a folyamat, ami ezekhez vezet, a kemotaxistól a lizoszomális degranulációig.

A kemotaxis zavara eredhet: *a)* a sejt adheráló, migrációs és alakváltoztató készségének hibájából, ami megnyilvánul mucocutan candidiasisban, Chediak—Higashi betegségben, vírus infekcióban, egyes tumorokban; *b)* a kemotaktikus faktor termelés hiányából vagy ennek a sejtekre való csökkent hatásából; *c)* a szérumban levő inhibitorok jelenlétéből vagy a serkentő anyagok hiányából [59].

A fagocitózishoz kapcsolódó rendellenességek származhatnak: *a)* a sejt nem kellő felismerési képességéből, ami a receptorok diszfunkciójából adódik; *b)* a bekebelezés hibájából; *c)* a sejt egyéb károsodásából.

a) Az IgG-ből természetes körülmények között felszabaduló tetrapeptid, a tuftsin stimulálja a baktériumok *(Staphylococcus)* fagocitózisát. Splenectomizált emberben és állatokban, valamint néhány tumoros megbetegedésben hiányzik ez a peptid, ami csökkent fagocitózist eredményez.

A monociták ellen képződött ellenanyagok, immunkomplexek, reuma-faktor elfoglalhatja az opszonizáló immunglobulin helyét a sejt felszínén és ezáltal gátolhatja a partikula aktuális felvételét.

b) Az ipari porok, pl. a szilícium-partikula úgy fejtik ki károsító hatásukat, hogy a szilíciumsav megbontja a lizoszóma-membránt, felszabadulnak a lizoszomális enzimek, amelyek a sejt halálát eredményezik [72]. Kóros lizoszóma-működés esetén hatásos védelmet jelentenek az ún. lizoszomatrop gyógyszerek [19]. Ezek szelektíven jutnak be a sejtekbe. A szelektivitást a hordozó anyag biztosítja; pl. kemoterápiás kezeléskor hordozó lehet a DNS, amelynek segítségével a DNS-t leginkább inkorporáló sejtek veszik fel a hatóanyagot. A lizoszómában a gyógyszer felszabadul és kifejti hatását az ott levő enzimrendszerre, vagy a lizoszóma-membránra. A szilícium partikula károsító hatásával szemben a sejtekbe juttatott olivinilpirolidin nitrogénoxid gyakorol védőhatást a lizoszóma membránra.

c) A fagocitáló sejt alkalmatlan lehet az infekció leküzdésére genetikusan vagy betegség, így pl. neoplázia következtében. A funkciók csökkenése összefügghet elsősorban az MP sejtek számszerű csökkenésével csontvelőhiány, krónikus neutropénia esetén. Ezek a betegségek a sejt számszerű csökkenése

I. táblázat

Monocita és makrofágok mikrobicid aktivitásának kongenitális és szerzett károsodása

Table 1. Congenital and acquired defects of monocyte and macrophage microbicida activity

Betegség	Károsodott sejt	Feltételezett mechanizmus
Chronicus gramulomatosus betegség	Monocita	Abnormális oxigén metabolizmus
Mieloperoxidáz deficiencia	Monocita	Mieloperoxidáz deficiencia
Chediak-Higashi syndroma	? Monocita Makrofág	Abnormális degranuláció
Mielomonocitás leukemia és néhány lymphoma	Abnormális mononukleáris fagociták	?
Pulmonalis alverolaris proteinosis	Alveoláris makrofágok	Lizoszóma depléció

mellett rendszerint együtt járnak a monociták mozgásképességének, kemotaxisának csökkenésével is. A fagocitózisra közvetlenül hat a sejt ATP készletének csökkent szintje krónikus hipofoszfatémia, galaktozémia esetén, ilyenkor a celluláris energia metabolizmus szenved kárt [13, 80].

Az *I. táblázat* összefoglalja azokat a betegségeket, amelyek az MPS kóros működésével járnak együtt. Mindezek alapján kezdjük felismerni, hogy az abnormális makrofág funkciók és a humán betegségek között összefüggés áll fenn.

IRODALOM

1. Anderson, C. L. and Grey, H. M. (1977) Solubilization and partial characterization of cell membrane Fc receptors. *J. Immunol.*, **118**, 819—825.
2. Arenson, E., Epstein, M. B. and Seeger, R. C. (1979) Monocyte subset in neonatans and children. *Pediatrics*, Supplement **64**, 740—744.
3. Arend, W. P. and Mannik, M. (1973) The macrophag receptor for IgG: number and affinity of binding sites. *J. Immunol.*, **110**, 1455—1464.
4. Atkinson, J. P. and Frank, M. M. (1974) Complement-independent clearence of IgG-sensitized erythrocytes: Inhibition by cortisone. *Blood*, **44**, 629—638.
5. Atkinson, J. P., Michael, J. M., Chaplin, H., Jr. and Parker, C. W. (1977) Modulation of macrophage C3b receptor function by cytochalasin-sensitive structures. *J. Immunol.*, **118**, 1292—1299.
6. Atkinson, J. P. and Parker, C. W. (1977) Modulation of macrophage Fc receptor function by cytochalasin-sensitive structures. *Cell. Immunol.*, **33**, 353—363.
7. Berghem, L. E., Ahlgren, L. T., Grundfeldt, M.-B., Lahnborg, G. and Schildt, B. E. (1978) Heparin-induced impairment of phagocytic and catabolic functions of the reticuloendothelial system in rats. *J. Reticuloendothelial Soc.*, **23**, 21—28.
8. Bourgois, A., Abney, E. R. and Parkhouse, R. M. E. (1977) Structure of mouse Fc receptor. *Eur. J. Immunol.*, **7**, 691—695.
9. Brown, S. S. and Spudich, J. A. (1979) Cythocalasin inhibits the rate of elongation of actin filament fragments. *J. Cell. Biology*, **83**, 657—662.
10. Bumol, T. F. and Douglas, S. D. (1977) Human monocyte cytoplasmic spreading *in vitro:* early kinetics and scanning electron microscopy. *Cell. Immunol.*, **34**, 70—78.
11. Chang, K. P. and Dwyer, D. M. (1978) *Leishmania donovani.* Hamster macrophage interactions *in vitro:* cell entry intracellular survival and multiplication of amastigates. *J. exp. Med.*, **147**, 515—530.
12. Cline, M. J. and Golde, D. W. (1973) A review and reevaluation of the histiocytic disorders. *Am. J. Med.*, **55**, 49—60.
13. Cline, M. J., Lehrer, R. I., Territo, M. C. and Golde, D. W. (1978) Monocytes and macrophages: Functions and diseases. *Ann. Int. Med.*, **88**, 78—88.
14. Cohn, Z. A. (1978) The activation of mononuclear phagocytes: Fact, fancy, and future. *J. Immunol.*, **121**, 813—816.
15. Cox, J. P. and Karnovsky, M. L. (1973) The depression of phagocytosis by exogeneous cyclic nucleotides, prostaglandins, and theophyline. *J. Cell. Biol.*, **49**, 480—490.
16. Cunningham-Rundles, C., Siegal, F. P. and Good, R. A. (1978) Isolation and characterization of a human mononuclear cell Fc receptor. *Immunochemistry*, **15**, 365—370.
17. Douglas, S. D. and Huber, H. (1972) Electron microscopic studies of human monocyte and lymphocyte interaction with immunglobulin, and complement-coated erythrocytes. *Expl. Cell. Res.*, **70**, 162.
18. Douglas, S. D. and Daughaday, C. C. (1976) Kinetics of monocyte receptors activity for immunoproteins in patients with sarcoidosis. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **278**, 190—200.
19. De Duve, C. (1978) Therapy with lysosomatropic drugs. *In:* van Furth, R. (ed.): *Mononuclear phagocytes in immunity, infection and pathology.* Blackwell, Oxford, 609—616.
20. Ehlenberger, A. G. and Nussenzweig, V. (1977) The role of membrane receptor for C3b and C3d in phagocytosis. *J. exp. Med.*, **145**, 357—371.
21. Fleer, A., van Schaik, M. L. J., von dem Borne, A. E. G. Kr. and Engelfriet, C. P. (1978) Destruction of sensitized erythrocytes by human monocytes *in vitro:* effects of cytochalasin B. hydrocortisone and colchicine. *Scand. J. Immunol.*, **8**, 515—524.

22. Frank, M. M., Hamburger, M. I., Lawley, T. J., Kimberly, R. P. and Plotz, P. H. (1979) Defective reticuloendothelial system Fc-receptor function in systemic lupus erythematosus. *N. Engl. J. Med.*, **300,** 518—523.
23. van Furth, R. (1976) Macrophage activity and clinical immunology. III. Origin and kinetics of mononuclear phagocytes. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **278,** 161—175.
24. Gee, J. B. L., Bodel, P. T. and Zorn, S. K. (1978) Sarcoidosis and mononuclear phagocytes. *Lung*, **155,** 243—253.
25. Gergely, J. (1979) *Immunbiológia.* Medicina, Budapest.
26. Gordon, S. and Cohn, Z. A. (1973) The macrophage. *International Review of Cytology*, **36,** 171—214.
27. Griffin, F. M. Jr. and Silverstein, S. C. (1974) Segmental response of the macrophage plasma membrane to a phagocytic stimulus. *J. exp. Med.*, **139,** 323—336.
28. Griffin, F. M., Griffin, J. A. and Silverstein, S. C. (1976) Studies of the mechanism of phagocytosis II. The interaction of macrophages with anti-immunoglobulin IgG-coated bone marrow-derived lymphocytes. *J. exp. Med.*, **144,** 788—809.
29. Grunspan-Swinsky, A. and Pick, E. (1978) Enhencement of macrophage adenilate cyclase by microtubule disrupting drugs. *Immunpharmacology*, **1,** 71—82.
30. Haegest, D. G. (1979) Demonstration of IgM receptors on human periferal blood monocytes using a direct plaque forming cell (PFC) assay. *J. Immunol. Methods*, **28,** 97—104.
31. Halloran, P. F. and Stylianos, S. K. (1978) Macrophage—alloantibody—target cell interaction. *Transplantation*, **25,** 296—301.
32. Hamburg, S. J., Manejias, R. E. and Rabinovitch, M. (1978) Macrophage activation: Increased ingestion of IgG-coated erythrocytes after administration of interferon inducers to mice. *J. exp. Med.*, **147,** 593—598.
33. Harvarth, L., Amivault, H. J. and Andersen, B. R. (1978) Chemoluminescence of human and canine polymorphonuclear leukocytes in the absence of phagocytosis. *J. Clin. Invest.*, **63,** 1145—1154.
34. Hoefsmit, E. Ch. M. (1975) Mononuclear phagocytes, reticulum cells, and dendritic cells in lymphoid tissues. *In:* van Furth, R. (ed.): *Mononuclear phagocytes in immunity, infection, and pathology.* Blackwell, Oxford, 129—146.
35. Holland, P., Holland, N. H. and Cohn, Z. A. (1972) The selective inhibition of macrophage phagocytic receptors by antimembrane antibodies. *J. exp. Med.*, **135,** 458—475.
36. Horwitz, D. A., Kight, N., Temple, A. and Allison, A. C. (1979) Spontaneous and induced cytotoxic properties of human adherent mononuclear cells: Killing of non-sensitized and antibody-coated non-erythroid cells. *Immunology*, **36,** 221—228.
37. Huber, H. and Fudenberg, H. H. (1968) Receptor sites of human monocytes for IgG. *Int. Arch. Allergy*, **34,** 18—31.
38. Huber, H., Polley, M. J., Linscott, W. D., Fudenberg, H. H. and Müller-Eberhard, H. J. (1968) Human monocytes: Distinct receptor sites for the third component of complement and for immunoglobulin G. *Science*, **162,** 1281—1283.
39. De Jong, M. C. J. M. (1979) Esterase staining of human peripheral blood mononuclear cells. *J. Immunol. Methods*, **26,** 193—196.
40. Kaplan, G. and Bertheussen, K. (1977) The morphology of echinoid phagocytes and mouse peritoneal macrophages during phagocytosis *in vitro*. *Scand. J. Immunol.*, **6,** 1289—1296.
41. Kaplan, G., Eskeland, T. and Seljelid, R. (1978) Difference in the effect of immobilized ligands on the Fc and C_3 receptors of mouse peritoneal macrophages *in vitro*. *Scand. J. Immunol.*, **7,** 19—24.
42. Katz, P., Simone, C. B., Henkart, P. A. and Fauci, A. S. (1980) Mechanisms of antibody-dependent cellular cytotoxicity. *J. Clin. Invest.*, **65,** 55—63.
43. Kávai, M., Dankó, K., Kalmár, E., Francia, I. and Szegedi, Gy. (1977) Radioassay of soluble immune complexes using their uptake by macrophage Fc receptors. *Immunology*, **32,** 617—621.
44. Kávai, M., Laczkó, J. and Csaba, B. (1979) Functional heterogeneity of macrophages. *Immunology*, **36,** 729—732.
45. Kávai, M., Lukács, K., Sonkoly, I., Pálóczi, K. and Szegedi, Gy. (1979) Circulating immune complexes and monocyte Fc function in autoimmune diseases. *Ann. rheum. Dis.*, **38,** 79—83.
46. Kávai, M., Lukács, K., Jókay, I., Jr., Berndt, A. and Szegedi, Gy. (1980) Loss of monocyte membrane receptors of patients with SLE. *Clin. Exp. Immunol.*, **40,** 66—71.
47. Keszty üs, L., Kávai, M. and Csaba, B. (1972) Fixation of rabbit immunoglobulins to the peritoneal macrophages of the guinea-pig. *Ann. Immunol. Hung.*, **16,** 229—235.
48. Knop, J., Ax, W., Sedlacek, H. H. and Seiler, F. R. (1978) Effect of Vibrio cholerae

neuroaminidase on the phagocytosis of E. coli by macrophages *in vivo* and *in vitro*. *Immunology*, **34**, 555—563.
49. KOREN, H. S., ANDERSON, S. J. and LARRIK, J. M. (1979) *In vitro* activation of a human macrophage-cell line. *Nature*, **279**, 328—331.
50. LAY, H. W. and NUSSENZWEIG, V. (1968) Receptors for complement on leucocytes. *J. Exp. Med.*, **128**, 991—1009.
51. LEHMEYER, J. E. and JOHNSTON, R. B., Jr. (1978) Effect of anti-inflammatory drugs and agents that elevate intracellular cyclic AMP on the release of toxic oxigen metabolites by phagocytes: Studies in a model of tissue-bound IgG. *Clin. Immunol. Immunopathol.*, **9**, 482—490.
52. LESLIE, R. G. Q. and NIEMETZ, A. H. (1979) Species specificity in the binding of IgG to macrophages. *Immunology*, **37**, 835—840.
53. LOUBE, S. R., McNABB, T. C. and DORRINGTON, K. J. (1978) Isolation of an Fc gamma-binding protein from the cell membrane of a macrophage-like cell line ($P388D_1$) after detergent solubilization. *J. Immunol.*, **120**, 709—715.
54. LOHMANN-MATTHES, M.-L., DOMZIG, W. and RODER, J. (1979) Promonocytes have the functional characteristic of natural killer cells. *J. Immunol.*, **123**, 1883—1886.
55. MANTOVANI, B., RABINOVITCH, M. and NUSSENZWEIG, V. (1972) Phagocytosis of immune complexes by macrophages: Different roles of the macrophage receptor sites for complement (C_3) and for immunoglobulin (IgG). *J. exp. Med.*, **135**, 780—792.
56. MARÓDI, L., CSABA, S. and KARMAZSIN, L. (1979) A leukocita funkció zavarai. *Az orv. tud. aktuális problémái*, **34**, 5—30.
57. MEDGYESI, G. A., FÓRIS, G., DEZSŐ, B., GERGELY, J. and BAZIN, H. (1908) Fc receptors of rat peritoneal macrophages: Immunoglobulin class specificity and sensitivity to drugs affecting the microfilament or microtubule system. *Immunology*, **40**, 317—323.
58. MICHL, J., OHLBAUM, D. M. and SILVERSTEIN, S. C. (1976) 2-Deoxy-glucose selectively inhibits Fc and complement receptor-mediated phagocytosis in mouse peritoneal macrophages. I. Description of the inhibitory effect. *J. exp. Med.*, **144**, 1465—1483.
59. MADERAZO, E. G., WORONICK, C. L. and WARD, P. A. (1979) Leukokinesis-enhancing factor in human serum: Partial characterization and relationship to disorders of leukocyte migration. *Clin. Immunol. Immunopathol.*, **12**, 382—395.
60. MURRAY, H. W. and COHN, Z. A. (1979) Macrophage oxigen-dependent antimicrobial activity. I. Susceptibility of Toxoplasma gondii to oxigen intermediates. *J. exp. Med.*, **150**, 938—949.
61. MUSCHEL, R. J., ROZEN, N., ROZEN, O. M. and BLOOM, B. R. (1977) Modulation of Fc-mediated phagocytosis by cyclic AMP and insulin in a macrophage-like cell line. *J. Immunol.*, **119**, 1813—1820.
62. NICHOLS, B. A. and BAINTON, D. F. (1973) Differentiation of human monocytes in bone marrow and blood. *Lab. Invest.*, **29**, 27—40.
63. NIR, S. and ANDERSON, M. (1977) Van der Waals interaction between cell surfaces. *J. Membr. Biol.*, **31**, 1—18.
64. NORRIS, D. A., MORRIS, R. M., SANDRSON, R. J. and KOHLER, P. F. (1979) Isolation and functional subsets of human peripheral blood macrophages. *J. Immunol.*, **123**, 166—172.
65. OLIVER, J. M. (1975) Microtubules, cyclic GMP and control of cell surface topography. *In:* ROSENTHAL, A. S. (ed.): *Immune recognition*. Academic Press, New York, 445—462.
66. RABINOVITCH, M., MANEJIAS, R. E. and NUSSENZWEIG, V. (1975) Selective phagocytic paralysis induced by immobilized immune complexes. *J. exp. Med.*, **142**, 827—838.
67. RAGSDALE, C. G. and AREND, W. P. (1980) Loss of Fc receptor activity after culture of human monocytes on surface bound immune complexes. *J. exp. Med.*, **151**, 32—44.
68. RALPH, P. and NAKOINZ, I. (1980) Environmental and chemical dissociation of antibody-dependent phagocytosis from lysis mediated by macrophages: Stimulation of lysis by sulfhydril-blocking and esterase-inhibiting agents and depression by trypan blue and trypain. *Cell. Immunol.*, **50**, 94—105.
69. REIKVAM, Å. (1977) The phagocytic capacity of macrophages in the S phase of the cell cycle. *Cell. Immunol.*, **31**, 199—204.
70. RHODES, J. M. (1975) Macrophage heterogeneity in receptor activity: The activation of macrophages Fc receptor function *in vivo* and *in vitro*. *J. Immunol.*, **114**, 976—981.
71. RISTER, M., BAUERMEISTER, K., GRAVEST, U. and GLADTKE, E. (1978) Superoxide-dismutase deficiency in rheumatoid arthritis. *Lancet*, *i*, 1094—1094.
72. O'ROURKE, E. J., HALSTEAD, S. B., ALLISON, A. C. and PLATTS-MILLS, T. A. E. (1978) Specific lethality of silica for human peripheral blood mononuclear phagocytes, *in vitro*. *J. Immunol. Methods*, **19**, 137—151.

73. SANNES, R. L. and SPILER, S. S. (1979) Inhibitory effects of cytochalasin B and the onophores A 23187 and X 537A on binding and uptake of immune complexes by alveolar macrophages. *J. Reticuloendothel. Soc.*, **26**, 317—331.
74. SCOTT, R. E. and ROSENTHAL, A. S. (1977) Isolation of receptor-bearing plasma membrane vesicles from guinea pig macrophages. *J. Immunol.*, **119**, 143—148.
75. SCHMIDT, M. E. and DOUGLAS, S. D. (1972) Disappearance and recovery of human monocyte IgG receptor activity after phagocytosis. *J. Immunol.*, **109**, 922—926.
76. SHINOMIYA, T. and KOYAMA, J. (1976) *In vitro* uptake and digestion of immune complexes containing guinea-pig IgG_1 and IgG_2 antibodies by macrophages. *Immunology*, **30**, 267—275.
77. SIMCHOWITZ, L., METHE, J. and SPILBERG, I. (1979) Chemotactic factor-induced generation by superoxide radicals by human neutriphils. *Arthr. Rheum.*, **22**, 755—763.
78. SKAMENE, E., CHAYASIRISOTHAN, W. and KONSHAVN, P. A. L. (1978) Increased phagocytic activity of splenectomized mice challenged with Listeria monocytogenes. *Immunology*, **34**, 901—1094.
79. van SNICK, J. L. and MASSON, P. L. (1978) The effect of complement on the ingestion of soluble antigen antibody complexes and IgM aggregates by mouse peritoneal macrophages. *J. exp. Med.*, **148**, 903—914.
80. STOSSEL, T. P. (1977) Phagocytosis. Clinical disorders of recognition and ingestion. *Am. J. Pathol.*, **88**, 741—752.

ROLES OF MONONUCLEAR PHAGOCYTES IN HOST DEFENCE I.

Kávai, Mária

Department of Pulmonary Diseases, Division of Medicine,
University Medical School of Debrecen, Debrecen, Hungary

Mononuclear phagocytes (MP) have three well-defined functions. Their first function is defence against microorganisms, intracellular parasites and virus. In this role MP are aided by their well-developed phagocytic ability and their surface receptors for Ig and C3b. These receptors form firm attachment to organisms opsonized with immunoglobulin and complement and thereby facilitate phagocytosis. The incorporation is limited to certain membrane segments and it involves a sequence of superficial receptors; this phenomenon was called "zipper" mechanism.

There is a remarkable difference in the specificity of Fc receptors based on their interaction with different classes and subclasses of Ig. The expression of the reacting Fc receptor displays a very wide heterogeneity. The Fc receptor expression is genetically determined, and it is influenced by the cell maturation, by cell proliferation, by degree of activation of the cells. The MP may lose their Fc receptors in the usual way as a consequence of altered environment. The Fc and C3b receptors are controlled by cyclic nucleotides as well as by microfilament and microtubule system.

MP kill the ingested organisms by some process that use atmospheric oxigen and by others that are independent of oxigen.

Second function is that MP collect the garbage of the body, disposing of damaged cells and cell debris. MP are able to carry out antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity (ADCC) toward antibody coated erythrocytes and nucleated mammalian cells e.g. tumor cells. ADCC against targets may primarily reflect intracellular target lysis. Extracellular target cell lysis appears to be independent of the generation of O_2 metabolites. It has been demonstrated that human monocytes can kill non-sensitised human nucleated target cells, too.

The third well-defined function of mononuclear phagocytes is the interaction with lymphocytes in the immune response which is discussed in the next part of this review.

Biológia, **28**, 1980, 227—240

A MONONUKLEÁRIS FAGOCITÁK (MP) SZEREPE A GAZDASZERVEZET VÉDEKEZŐ MECHANIZMUSÁBAN II.

AZ MP SZEREPE AZ IMMUNOLÓGIAI VÉDEKEZÉSBEN

KÁVAI MÁRIA
Debreceni Orvostudományi Egyetem Tüdőgyógyászati Klinika
Általános Belgyógyászat, Debrecen

Beérkezett: 1980. május 5.

Kulcsszavak: mononukleáris fagociták, antigén prezentáció, Ia antigén, makrofág faktorok makrofág aktiválás

A mononukleáris fagocitarendszernek (MPS) a gazdaszervezet nem immunológiai alapon nyugvó, korábban tárgyalt védekezése mellett az immunológiai védekezésben játszott szerepe is lényeges. Ez utóbbi folyamatban döntő az MP kapcsolata az immunválasz kialakításában szerepet játszó sejtekkel és ezek sejttermékeivel, ami kölcsönösségi alapon megy végbe. A makrofágok (Ma) részéről a korábban felsorolt funkciók és sejtalkotórészek alapvető szerepe mellett lényeges az MP sejtfelszín antigén tulajdonsága.

Az MP sejtek rendelkeznek a leukocita közös antigénekkel. A humán MP sejtek a HLA-A, -B és -C lókusz antigén produktumain kívül olyan membrán antigéneket is hordoznak, amelyek az egér Ia antigénjéhez hasonlóak. Egér makrofágokon ismerték fel az immunreaktivitási génrégió (Ir) által meghatározott Ia antigéntulajdonságot. Emberben ezeket a 6-os kromoszóma HLA régiójában található lókuszok határozzák meg, közelebbről a HLA-D lókusz. Elnevezésükre 1977 óta a Nomenklatúra Bizottság az eddig használt és az egér vonatkozásában ma is használatos Ia jelölés helyett a HLA-DR-t (D-related) vezette be [21]. Az MP sejteken kívül megtalálható a B-limfocitákon (Ly), a T-limfociták egyes szubpopulációin, a spermiumokon és egyes csontvelői őssejteken. Az MP sejteknek csak bizonyos százaléka hordozza az Ia vagy a HLA-DR antigént attól függően, hogy milyen a sejt érési állapota, aktiváltságának foka, és hogy hol fordul elő a szervezetben.

A monociták makrofágokká való érése során megjelenik egy újabb antigén, amelyet Mac-1-nek neveznek. Ennek megjelenésével csökken a makrofágokon a leukocita közös antigének száma [57].

Az 1920-as és 30-as években ismerték fel a makrofágok szerepét az antigének lebontásában. SABIN [50] 1923-ban ellenanyagképző képességet is tulajdonított nekik. Mikor felismerték, hogy a limfociták képezik az ellenanyagokat, a makrofágoknak az immunválaszban tulajdonított szerepe elhomályosult. Ez volt a helyzet a 60-as évek elejéig, amikor FISHMAN és ADLER [15] úgy találta, hogy az immunkompetens sejteknek az antigénnel való reakciójához szükség van arra, hogy előbb a makrofágok átalakítsák az antigéneket. Ez a felújított érdeklődés ellenben nem tartott sokáig, mivel bebizonyosodott, hogy a limfociták rendelkeznek antigén felismerő képességgel.

Jelenleg a makrofágok újra az immunfelismerés középpontjába kerültek azzal, hogy kiderült, hogy az immunválasz legalább 3 immunkompetens sejt részvételével történik; a makrofágok, a timuszból származó T-sejtek és a timusz independens ellenanyagképző sejt prekurzorok, a B-sejtek részvételével [27, 72]. Nyilvánvaló lett, hogy a makrofágok lényeges szerepet töltenek be az antigéneknek a T-sejtek számára való átadásában (antigén prezentáció), és hogy a 3 sejttípus közötti kölcsönhatás központi szerepet tölt be a válaszreakció beindításában.

A makrofágok antigén-specificitásukat illetően klonálisan nem szelektáltak, mint nem specifikus akcesszorsejtek fejtik ki hatásukat az antigénnel, allogén sejtekkel és mitogénekkel stimulált T- és B-limfociták válaszreakcióinak egész sorára.

A legtöbb eredmény, ami a makrofágok és a T-, B-sejtek kapcsolatára vonatkozik, *in vitro* megfigyelésen alapszik, mivel a makrofágokat nem iktathatjuk ki az egész szervezetből, vagy legfeljebb rövid funkcionális blokádot létesíthetünk szerepük tisztázására. De remélhető, hogy az *in vitro* kísérletek közelebb visznek az *in vivo* történések megismeréséhez, mivel mindkét esetben hasonló sejtek, Ig-ok (immunglobulinok) vesznek részt a reakcióban, az antigének (Ag) immunogenitása, a válaszreakció kinetikája összehasonlítható.

A timusz dependens (TD) és independens (TI) antigén válasz különböző makrofág igénnyel rendelkezik. A TI antigének (LPS, pneumokokkusz poliszacharid) nem függenek a makrofágoktól vagy legalábbis kevésbé, mint a TD antigének. Az antigének timusz és makrofág függése szoros kapcsolatban áll egymással. Ez a szoros kapcsolat vezetett a különböző hipotézisek kialakulásához a makrofágoknak az immunválaszban betöltött szerepéről.

A makrofágok hatása az immunválasz afferens ágán

A makrofágok közvetítik az antigént az immunogenetikusan meghatározott T-sejtek felé. A makrofág és T-sejt kapcsolat szoros érintkezést jelent a két sejt felületén. Az antigén prezentáció a makrofág sejtfelület milyenségétől, antigén tulajdonságától függ.

Heterológ vvs-ek vagy egyéb partikulák számára makrofágok által történő Ag prezentációra nincs feltétlenül szükség, de az oldott Ag-ok számára lényeges a makrofágok ezen funkciója. Az albumin a makrofág felületéhez kötve 1000-szer, 10 000-szer erősebb antigén, mint egyébként.

Az idegen anyag immunogénné válásában az MP szerepe kétféleképpen érvényesülhet. Az egyik lehetőség az, hogy a nagyrészt bekebelezett és lebontott anyag mellett a Ma felületén marad néhány molekula le nem bontott állapotban. A másik lehetőség, hogy az anyag csak részlegesen degradálódik, és ezt követően felszabadul a sejtből, a sejt felszínére kerül. Előbb az elsőre találtak bizonyítékot [70], majd a második hipotézist tartották jelentősebbnek. Kézenfekvőnek látszott, hogy az elhalt makrofágokból állandóan kerülnek rosszul vagy nem teljesen lebontott idegen anyagok a sejtek környezetébe, ami egy elnyújtott, de állandó Ag ingert jelentene [7]. Ezen elképzelés ellen szól, hogy a felszabaduló anyag antigénként való viselkedése és a sejtelhalást jelző tejsav-dehidrogenáz mennyisége nem volt arányos, valamint az, hogy a felszabadult anyag immunogén sajátossága az eredeti anyagét nem múlta felül. Az Ag prezentáció módjait vizsgálva visszatértek az első elképzeléshez, az

antigén a sejt felületén legyen hosszú ideig, de nem túlságosan megváltozott formában [44].

Az Ag prezentáló sejtek és a specifikus T-limfociták kölcsönhatása az Ir gén által irányított kapcsolat [59]. Az Ir gén expressziója, az Ia antigén tulajdonság inkább az Ag-t prezentáló makrofágon kell hogy kifejezésre jusson, mint az Ag-re válaszoló T-limfocitán. Azok a makrofágok, amelyeken nincs Ia csoport, nem tudják az Ag-t a T-sejt felé közvetíteni. Ez állatkísérletben a non responder és responder szülők F_1 nemzedékén igazolható [56]. A non responder törzsekben valószínű hiányzik a makrofágokon az Ia antigén tulajdonság [39]. A responder állatok makrofágjainak is csak egy részén van Ia antigén [67], így *in vitro* igazolható, hogy az Ag átadásában csak ezek a makrofágok vesznek részt. A makrofágokon levő Ia antigén tulajdonság jelentőségét húzza alá az a tény is, hogy az Ia tulajdonsággal rendelkező allogén makrofágok helyettesíthetik a szingén makrofágokat a T-sejt felé irányuló Ag átadásban.

További kérdés, hogy az Ag hogyan kapcsolódik a makrofág felületén levő Ia antigénhez. A legegyszerűbb lehetőség, hogy specifikus interakció jön létre az Ag és a sejt felületén levő Ia antigén rész között. A másik lehetőség, hogy az Ag elindít egy változást az Ia antigén csoportban, amit a T-sejt mint immunogén tulajdonságot ismert fel. A harmadik lehetőség, hogy az Ia antigén rész indukál változást a makrofág felületéhez kötődő Ag-ben, a T-sejt Ag felismerését ez a változás segíti elő. A makrofághoz kapcsolt Ag, illetve haptén DNS termelésre, sejtproliferációra készteti az elkötelezett T-sejteket, ami annak a jele, hogy a T-sejt felismerte a makrofág felületéhez kötött Ag-t. Ezt a reakciót az Ag-nel szemben termelt ellenanyag gátolja. Hasonlóan blokkolja a reakciót a makrofág felületén levő Ia antigénnel szemben termelt ellenanyag. E két gátlásból arra lehet következtetni, hogy a sejt felületére kapcsolt Ag és az Ia antigén között kapcsolat jött létre, egy komplex alakult ki, igazolva a kölcsönhatásra vonatkozó legegyszerűbb hipotézist. Ezt az eredményt azonban a biokémiai vizsgálatok nem támasztották alá, a makrofágon ilyen komplexet nem lehetett kimutatni. Az Ag ellen termelt ellenanyaggal végzett gátlási kísérleteket felülvizsgálva bebizonyosodott, hogy ezek nem általános érvényűek, csak a sejt felületéhez speciálisan kapcsolt antigénekre és csak azonnal a kapcsolást követően érvényesek [60]. Ha oldott formában veszi előzőleg körül az Ag a makrofágot és spontán alakul ki kapcsolódás a sejt és az Ag között, az ellenanyaggal való kezelés nem vezetett a T-sejt proliferáció gátlásához [4]. Az Ia csoporttal szemben termelt ellenanyag blokkoló hatása viszont általános érvényű [38]. Így az Ag és a makrofág felületén levő Ia antigén csoport kölcsönhatását tekintve az a valószínűbb, hogy az Ia antigén csoport befolyásolja a makrofág felületéhez kötődő Ag-t, nem pedig fordítva [48]. Az Ag nem direkt kötődik az Ia csoporthoz, hanem a sejt felületén egy másik fehérjéhez kapcsolódik, és másodlagosan lép kölcsönhatásba az Ia csoporttal [60]. Elképzelhető, hogy az Ir génen belül az IA génszakasz által meghatározott Ia antigénnek a makrofág felületén Ag felismerő tulajdonsága van, és a makrofág ennek révén vesz részt a T-limfocita számára történő Ag prezentációban [49].

Végül meg kell jegyeznünk, hogy a makrofág mellett a B-sejtnek is megvan az a képessége, hogy részt vegyen az Ag előkészítő folyamatban azzal a különbséggel, hogy a makrofágok számos Ag előkészítésére alkalmasak, míg a B-sejtek csak azokat az Ag-eket ismerik fel, amelyek a B-sejt felületén levő Ig specifitással rendelkeznek [55].

A T-sejt felismeri az Ag prezentáló sejt két jellegzetességét: a kötött Ag-t és a sejt felületén levő Ia antigént. A T-sejt két felismerő struktúrával rendelkezik, az egyik az Ag-re, a másik az IA gén termékére specifikus. Lehetséges, hogy a két receptor egymástól függetlenül működik, és lehetséges, hogy fizikailag összekapcsolt, komplex determináns. A már említett kísérlet a responder és non responder egerek F_1 nemzedékével az utóbbi teóriát valószínűsíti. Az Ia antigén és a felülethez kötött Ag egy sejten való közös jelenléte kell ahhoz, hogy a T-sejt és a makrofág kölcsönhatás kialakulhasson és hogy a T-sejt számára való Ag prezentáció sikeres legyen.

Az Ia csoport nem specifikus trigger hatással rendelkezik, a szérumban is kimutatható, a szérum albumin frakciójában, glikoproteid tulajdonságú. A T-sejten levő Ia felismerő receptor és az Ia egymáshoz való affinitása nagyon alacsony, ezért specifikus trigger feltételezhetően csak akkor alakul ki, ha a T-sejten levő Ag receptor fókuszálja a T-sejteket az Ag-t hordozó sejtekhez. Normális körülmények között a T-sejt nem aktiválódik a szérum alacsony Ia szintje következtében, és alapállapotban a makrofágoknak is csak kis része (10—15 %) rendelkezik felületi Ia antigénnel. De ha egy Ia-t hordozó sejt, így a makrofág megköti az Ag-t vagy vírussal fertőződik, az antigén kötő receptorok hatásosan fókuszálják a T-sejtet az Ia tartalmú sejtekhez és így a T-sejt folyamatosan a trigger molekulák nagy számának lesz kitéve.

Az Ia molekula aktiváló hatása nemcsak az Ag-re adott válaszban érvényesült, hanem a T-sejteknek a nem specifikus mitogénekre, így Con-A-ra (Concanavalin-A) adott válaszában is. Az Ia molekula részei az evolúció során korán kialakultak, a különböző specieszekben az aktiváló tulajdonsággal rendelkező Ia molekularész hasonló. A különböző forrásból eredő szérumok egyformán hatásosak a T-sejtek Con-A-ra adott válaszának kifejlődésében [43]. Ez a lehetőség támasztja alá azt a tényt is, hogy az Ia-t tartalmazó allogén makrofágok helyettesíthetik a szingén makrofágokat a primer immunválaszban és a Con-A által indukált T-sejt aktiválásában [35].

Újabban az Ag prezentációban a makrofágon levő Ia antigén tulajdonság mellett a T-sejten levő Fc receptornak (FcR) is jelentőséget tulajdonítanak.

Paraskevas és Lee [42] a Ma- és T-sejt kölcsönhatását vizsgálva elkülönítik az Fc^- és az Fc^+ T-sejtekre való hatást. Korábban megállapították [32, 33] a szerzők, hogy mind a makrofágok, mind az Fc^+ T-sejtek képesek elveszíteni az FcR-ukat és az Ia antigénjüket. A két sejt együttes jelenléte esetén az Fc^+ T-sejt az elvesztett FcR-t a makrofágról lekerült FcR-ral is képes pótolni. Ennek alapján az FcR-nak jelentőséget tulajdonítottak a Ma- és T-limfocita kölcsönhatásban. Másrészről Paraskevas és mtsai [41] azt találták, hogy egy szabad SH-csoporttal rendelkező makrofág faktor az Fc^- T-sejtre hat, elindít egy serkentőfaktor-képződést. Ez a faktor a komplex Ag-t hapténné lebontó makrofág (antigén prezentáció) és az Ig termelő B-sejt révén az Ig — Ag komplex korai termelését indukálja. Ezt a korai komplexet a T-sejtnek az Fc^+ és Ia^+ szubpopulációja ismeri fel, de nem az FcR révén, hanem az Ia csoport révén, mint ahogyan a T-sejten levő Ia antigén szerepét az Ag felismerésben már korábban is sokan hangsúlyozták. Az Ag-t felismerő T-sejt tehát nemcsak Ia^+, hanem Fc^+ is kell hogy legyen, bár az FcR-nak az antigén megkötésben nincs közvetlen szerepe. Másrészt az Fc^+ és Ia^+ T-sejt az Ag-t egy korai Ig—Ag komplex formában ismeri fel, aminek a kialakulásában a makrofág faktor és a Fc^- T-sejt által termelt faktor jelentős szerepet játszik.

A makrofágok hatása az immunválasz efferens ágán]

1. A makrofág függő T helper sejt indukció különböző faktorokon keresztül érvényesül. A két sejt kölcsönhatásához szükséges a MHC-en (major hisztokompatibilitási komplex) belül az IA (az immunreaktivitási génszakasz egy része) szubrégió által meghatározott antigének azonossága.

2. A makrofág szerepe lényeges a T- és B-sejt kollaboráció szempontjából, mint egy fókuszpont vagy mint egy közvetítő. Az egyik elképzelés szerint antigén jelenlétében a T helper sejten felszabadul egy specifikus faktor (IgT), ami a makrofág felületéhez kötődik és egy antigén determináns matrixot képez a B-sejt számára [13]. A másik elképzelés az, amit ASKONAS és ROELANTS [2] vetett fel, hogy a makrofágok hatása a T- és B-sejtre makrofág faktorokon keresztül érvényesül. A kísérletek inkább ez utóbbit támasztják alá.

3. A makrofágok elősegítik a T-sejt érését, valamint a T- és B-sejtek differenciálódását. Ez a hatás is makrofág faktorokon keresztül jut kifejezésre.

Az előbbi fejezetben az oldott Ag makrofág általi prezentációját vizsgáltuk, ami főleg a T-sejt felé irányul. A makrofág szerepe ezen túlmenően azokon a faktorokon keresztül érvényesül, amelyeket a makrofágok termelnek; ezek egy része közvetlenül hat a T- valamint a B-sejtekre, más része a T-sejteken keresztül hat a B-sejtekre. A faktorok keletkezéséhez az antigén jelenti a legerősebb ingert.

A kísérleti adatok szerint a makrofágok hatása részben helyettesíthető a makrofág faktorokéval [35], valamint redukáló ágenssel, így 2-merkaptoetanollal [34]. Az utóbbi esetben a hatás szérumfaktorokon keresztül érvényesül. Ezek a faktorok inaktív állapotban benne vannak a gerincesek szérumában és amikor aktiválódnak, akkor stimuláló hatást gyakorolnak a limfocitákra.

A 2-Me révén a szérumból keletkező aktív faktor mediátorként működik a makrofág és a helper T-sejt között. A szérumból izolálható, 50 000 dalton molekulasúlyúnak találták [4], és MaSF-nak nevezték. A funkcionális hasonlóság a makrofág eredetű limfocita aktiváló faktor (LAF) és a 2-Me révén a szérumból keletkező faktor között kétségtelen.

A szérumból keletkező MaSF hatására antigén jelenlétében az elkötelezett T-sejtből T-sejt helyettesítő faktor (TRF) keletkezik [51]. A T-sejtből keletkező ezen faktor más úton is létrejön, így Con-A-val való *in vitro* stimulálás alkalmával, vagy kevert limfocita tenyészetben. A makrofág szerepe éppen az lenne, hogy hasonló hatású szérum faktor keletkezését teszi lehetővé fiziológiás körülmények között. A lépsejtek ellenanyag szintéziséhez a MaSF-ra 48 óráig van szükség, míg a TRF szerepe ezt követően válik szükségessé. A TRF segíti elő az antigén stimulálta B-sejt proliferációját ellenanyag (At) szecernáló plazmasejtté [52].

Makrofág eredetű faktorok tulajdonságai

a) A makrofágok által termelt LAF mitogén hatású protein, ezért MP-nek is nevezik, a neutrofilek által termelt MP-hez hasonló, 13 000 dalton molekulasúlyú, GERY és WAKSMAN [18] fedezte fel. Hogy rendelkezik-e enzimaktivitással, nem tisztázott; esetleg szerin proteáz aktivitása van [36]. A LAF rezisztens tripszin kezelésre, de érzékeny kimotripszinre és papainra. Elő-

segíti a timociták DNS szintézisét, osztódását, kisebb mértékben a T- és B-sejtekét is, emeli az At képzést a T- és B-sejt kooperáció megkönnyítésével [8].

A makrofágok alapállapotban kevés LAF-ot szecernálnak, de ez növelhető a makrofágok aktiválása révén [63], valamint a fehérjeszintézist gátló anyagok megfelelő használatával, ami gátolja az MP keletkezését kontrolláló valamelyik enzim szintézisét [64]. Az aktiválást követő 24 óra múlva a makrofág által termelt MP degradálódik, elveszti hatását.

b) Az ellenanyagképzésre ható makrofág faktorok kétfélék. Az *egyik* T-sejt és antigén jelenléte nélkül direkt a B-sejtre hat, és elősegíti a B-sejt differenciálódását. Ez a faktor egy 140 000 és egy 15 000 dalton molekulasúlyú komponensből áll. A második molekulasúlya megegyezik az előbb tárgyalt LAF-éval, de nem minden makrofág tenyészet termeli mindkét, közel 15 000 molekulasúlyú faktort. A *másik* faktor a lép immunstátuszától függően növeli vagy csökkenti az ellenanyagtermelést antigén és T-sejt jelenlétében. A fokozó hatás a T-sejt helper funkciójának kiszélesítésében nyilvánul meg. Ez a faktor 40 000—60 000 dalton molekulasúlyú.

Ezek a faktorok, valamint a LAF a makrofágokból keletkeznek, de hatásukhoz a makrofágok jelenléte is szükséges. A makrofág és a helper T-sejt között belső kontaktus jön létre. Ehhez a kölcsönhatáshoz a MHC homológiája szükséges az IA gén szubrégióján belül [8, 65].

c) A makrofágból keletkezik a timusz sejtek differenciálódását elősegítő faktor (TDF). A timuszban történő sejtérést őssejtből protimocitává, éretlen timocitává és érett T-sejtté nemcsak a timusz-hormon befolyásolja, hanem a timuszban levő makrofág is. A timociták multiszignál hipotézisét Beller és mtsai [3] tireoprotein és makrofág jelenlétében végzett *in vitro* kísérletei támasztják alá. A makrofágok ezen differenciálódást elősegítő hatása a TDF-on keresztül érvényesül, ami egy 40 000 dalton molekulasúlyú fehérje. Jelenlétében a T-sejt fenotípusa, H_2 antigén tulajdonsága kialakul és tartósan megmarad. Ez a hatás 2-Me-lal nem helyettesíthető.

d) A colonia stimuláló aktivitást (CSA) vagy faktort egérben és tengerimalacban a limfociták termelik. Emberben a monocitákat tekintik a CSA forrásának [19].

I. táblázat

A makrofág tenyészetből származó limforeguláló faktorok

Table 1. Lymphoregulatory factors focend in macrophage culture fluids

Molekula	Biokémiai tulajdonsága	Hatása
Mitogén protein (LAF, MP)	megközelítőleg 15 000 dalton molekulasúlyú tripszin reziszstens	növeli a timociták DNS szintézisét és kevéssé a T- és B-sejtekét, növeli a T-sejt helper/szuppresszor aktivitást (?)
B-sejt differenciálódást okozó molekulák	két faktor: 140 000 és 15 000 dalton molekulasúlyú	az elkötelezett B-sejt differenciálódást At szekretáló sejtté antigén és T-sejt távollétében
T-sejt aktiváló molekulák	hasonló a MP-hez, 40 000-től 60 000 daltonig terjedő molekulák	növeli a helper/szuppresszor sejt aktivitást, ami függ az elkötelezettség fokától
Timusz sejteket differenciáló faktor (TDF)	40 000 dalton	éretlen timocitából érett T-sejt differenciálódás

e) Ezen ismertebb faktorok mellett a makrofág aktiválást követően még két egyéb faktor hatása is kimutatható, amelyek azonban csak biológiai értelemben meghatározottak. Az egyik a gyulladások helyén növeli a neovascularisatiót. POLVERINI és mtsai [46] szerint a gyulladások helyén és az immunválasz alatt létrejövő vascularisatiót, angiogenetikus faktor keletkezését, az aktivált makrofágok elősegítik. A másik faktor kemotaktikus hatású a limfocitákra, különösen a T-sejtekre [73]. Ezen két hatás révén a makrofágok lényeges szerepet játszanak a nyirokcsomóban az antigén belépését követő anatómiai változások kialakulásában. Az *I. táblázat*ban összegezzük a makrofágokból keletkező faktorok tulajdonságait.

A mononukleáris fagociták aktiváltsági állapota

A makrofágok funkciója szempontjából lényeges a makrofágok állapota. A makrofágok aktiválhatók és ebben az állapotban fokozottan fejtik ki hatásukat. A perifériás vér monocitái és a nem stimulált peritoneális makrofágok enzimeket nem szecernálnak, kivéve lizozimet, nem szabadítanak fel komplement komponenseket, nem szabadítanak fel faktorokat és a baktériumok megölésében sokkal kevésbé hatásosak, mint a neutrofilek. De ebben az állapotban is megvan az a képességük, hogy szintetizálják azokat a fehérjéket vagy más anyagokat, amelyek *in vitro* vagy *in vivo* provokáló hatásra felszabadulnak, és jelentős biológiai funkciókat fejtenek ki [66].

A nyugalmi állapotban, ún. alapállapotban levő makrofágok fagocitózis alatt és az azt követő 4—6 órában a jellegzetes anyagcsere és egyéb változásokat mutatják. Ezeket a sejteket stimulált makrofágoknak nevezik, a változás pedig csak időleges, nem vezet aktivált állapot kialakulásához.

Az aktivált állapot terminológiája, valamint biokémiai és morfológiai jellemzői még nem teljesen meghatározottak. A különböző rendszerezések közül COHN [10] beosztása áll legközelebb az *in vivo* történésekhez. Szerinte az alapállapotban (1) levő a MP-ák mellett gyulladásos (2) makrofágokat figyelhetünk meg. Ezek a sejtek az állat hasűri folyadékában jelennek meg LPS, proteáz-pepton, tioglukonát előzetes injekciója után. Ezek az anyagok mesterséges gyulladást hoznak létre, aminek következtében humorális és PMN sejttermékek serkentik a makrofágokat. A kialakult anyagcsere és egyéb változások hosszú ideig, esetleg napokig fennállnak. Harmadik csoport az ún. aktivált makrofágok (3). Ezt az állapotot aktivált limfocita termékek, limfokinek hozzák létre. Ebbe a csoportba sorolható a klasszikus antimikrobás és az antitumor aktiválódás is azon az alapon, hogy ezekben a folyamatokban is szerepe van a T-sejteknek. ALLISON [1] az aktiválódást okozó tényezők közé sorolja az immunkomplexeket (IC) és a C3 komplement hasadási termékeket is.

A *II. táblázat*ban összefoglaljuk az alapállapotban levő és a gyulladásos makrofágok néhány jellemző sajátságát COHN [10] szerint.

Aktiváló tényezők lehetnek:

1. Aktivált T-limfocita termékek. A szenzitizált T-limfociták az antigénnel reagálva eredményezik a legerősebb aktiváló hatást. A kevert limfocita tenyészet is serkentő hatású, valamint a lektinekkel stimulált T-sejtek. A hatás kifejtéséhez a makrofág és a T-sejt között belső kapcsolat kell hogy létrejöjjön [12]. A T-limfocitából felszabaduló termékek (limfokinek) közé tartozó, aktiváló hatású faktorok: a makrofág kemotaktikus faktor, amely képes a monoci-

II. táblázat

Egér peritoneális makrofágjainak tulajdonsága nyugalmi és gyulladásos állapotban

Table 2. Properties of resident and inflammatory macrophages from mouse peritoneal cavity

	Nyugalmi állapot	Gyulladásos állapot
Sejt fehérje (μg/10^6 sejt)	80	130
Szétterülés (% sejt/óra)	4	95
Plazma membrán ektoenzimek		
5'-nukleotidáz (E/mg/protein)	59	0,7
Alkalikus foszfatáz (mE/mg/protein)	1,43	3.91
Pinocitózis (nl/10^6/óra)	46	247
Fagocitózis E—IgG	600	1600
E—IgM—C	40	1000
ATP (μmol/mg protein)	2,4	18
Superoxid anion (μmol/mg fehérje/90 min)	45	520
Hidrogénperoxid (nmol/10^6/5 min)	0,28	$\pm$0,28
Szekretoros enzimek		
Lizozim (μg/mg fehérje)	56	47
Plazminogén aktivátor (E/mg fehérje)	1	800
Kollagenáz (E/10^7 sejt)	1	15
Elasztáz (E/10^7 sejt)	1,8	68
Lizoszomális hidrolozok (a sejtből kijutott össz aktivitás %-a)		
Savanyú foszfatáz	4	55
β-glukuronidáz	15	75
Katepszin D	21	65

tákat a kontakt hiperszenzitivitás vagy a gyulladás helyére irányítani; a migráció gátló faktor, amely immobilizálja a makrofágokat a lézióban; különböző aktiváló faktorok, amelyek fokozzák a makrofág anyagcseréjét, a fagocitózist, a mikrobicid hatást; a makrofág szétterülő képességét fokozó faktor, amely akut változást okozva a sejt felületén elősegíti, hogy a makrofág átjusson a gyulladásos mikrovasculatúrán; a makrofág aggregáló faktor, amely elősegíti a kiáramló makrofágok aggregációját a gyulladás helyén; a makrofág felfegyverző (arming) faktor, amely elősegíti a makrofágok extracelluláris citotoxicitását [11].

Az aktiválódás következtében a makrofágok hidrolitikus enzimeket szecernálnak, így pl. savanyú hidrolázt. Ennek következtében az intracelluláris és extracelluláris organizmusok osztódását gátolják, elpusztítják a neoplasztikus sejteket, szingén tumorokat [45]. Az aktivált limfociták szupernatánsa plazminogén aktiváló faktor kibocsátására serkenti a makrofágokat [69]. Az aktivált makrofágok nagy mennyiségben kollagenázt szabadítanak fel [71].

A T-sejttel való kölcsönhatásban, mint látható, a T-sejt is visszahat a makrofágra, ami az immunválaszban játszott funkciójukon kívül számos egyéb lényeges biológiai következménnyel jár.

2. Immunokomplexek. Az immunokomplexeknek (IC) a makrofágokra való aktiváló hatását *in vitro* kísérletek igazolták. A makrofágok Fc-receptoruk révén az IC-et molsúlyuk és összetételük függvényében különbözőképpen meg-

kötik és fagocitálják. A fagocitózis következtében a makrofágokból lizoszomális enzimek kerülnek a sejt környezetébe [9]. Rheumatoid arthritisben, bizonyos típusú glomerulonephritisben IC rakódik le a gyulladás helyén. Állatkísérletben kimutatható, hogy a gyulladás helyén felgyülemlett makrofágok IC maradványokat tartalmaznak. Ez bizonyítja, hogy részt vesznek az IC eltakarításában, de ugyanakkor aktiválódnak is.

3. C3 komplement hasadási termékek. A monocitákat endotoxinnal, dextrán szulfáttal vagy szérummentes közegben C3b-vel inkubálva anafilatoxikus aktivitású, C3a-nak identifikált anyag keletkezik, és a szövetekben megnő a tromboplasztin képződés. A három fenti esetben a közös aktiváló ágens a C3b [54].

Alapállapotban a makrofágok C3-t és a komplement aktiválás alternatív útjának B-faktorát szintetizálják. Mindkettőt inaktív formában szecernálják. Ha a monocitákat C3b-vel vagy más úton aktiválják, a sejtből olyan enzimek szabadulnak fel, amelyek hasítják a C3-at [53].

Így a komplement aktiválás lehetséges klasszikus és alternatív útjához csatlakozik a harmadik lehetséges út, a makrofág aktiváció, amely C3 hasítást eredményez, C3a és C3b keletkezik [54]. A C3b aktiválva a makrofágot, további C3b felszabaduláshoz vezet, körfolyamat alakul ki. Az egész rendszert a C3b inaktivátor szabályozza, ami a szérumban van jelen. Emellett gátló hatást fejtenek ki a proteáz inhibitorok, amelyek közül az α_2-makroglobulint maguk a makrofágok szintetizálják [24].

Az aktivált makrofágok által termelt szuppresszáló hatású anyagok

Az eddigiekben a makrofágok serkentő hatásáról beszéltünk, amit a makrofágok aktiváltsági állapotuktól függően fejtenek ki az ellenanyagtermelésre és a sejt közvetítette immunválaszra. Emellett a makrofágok, főleg ha szuboptimális mennyiségben vannak jelen, gátolhatják is az immunválaszt. Ez megnyilvánulhat sejtkultúrában levő limfociták primer ellenanyag termelésében, mitogén indukálta poliklonális B- és T-limfocita válaszban, kevert limfocita reakcióban, valamint tumor sejtekkel vagy allogén limfocitákkal szemben kialakult citotoxicitási reakcióban.

Melyek azok az anyagok, amelyek felelősek a gátló hatás kialakulásáért?

1. A makrofágok timidint szabadítanak fel a tápoldatba, ami az elhalt sejtek DNS degradációjából keletkezik. Kellő koncentrációban a timidin gátolja a sejtek proliferációját. Ennek révén a makrofágoknak citotoxikus és citolitikus hatása lehet [58].

2. A makrofágok sejtkultúrában és *in vivo* körülmények között arginázt termelnek, ami a sejtek elöléséhez, így immunszuppresszióhoz vezet. *In vivo* ennek a folyamatnak nincs olyan jelentősége, mint *in vitro*, részint mert *in vivo* az enzim nem halmozódik fel a sejt környezetében, részint mert az urea ciklus révén az arginin a májban szintetizálódik [29].

3. Gátló anyag lehet a poliaminooxidáz. Poliaminok vannak jelen magas koncentrációban a foetuszban, a neoplasztikus szövetekben, valamint a szeminális folyadékban. Ezek stimulálják a tumor sejtek és a limfociták növekedését. Poliaminooxidáz jelenlétében aminoaldehidekké alakulnak át, amelyek gátolják a különböző sejtféleségek növekedését [6]. LPS-dal aktivált makrofágok sejtkultúrájának felülúszójában poliaminooxidáz mutatható ki, amely spermidin jelenlétében gátolja az egér timocita kultúra proliferációját [1].

4. Gátló hatást fejthetnek ki a komplement hasadási termékek. A makrofág szintetizál néhány komplement komponenst, így C3-t, C4-t, és C2-t és a komplement aktiválás alternatív útjának B-faktorát [5, 31]. Aktiváló anyagok hatására a makrofág által termelt enzim hasítja a C3-at C3a-vá és C3b-vé. A C3b szerepéről már szóltunk, a C3a pedig a legfontosabb faktor a makrofágok által okozott tumor-sejt lízis kialakulásában. A kis limfociták viszonylag rezisztensek a C3a litikus hatására, de a transzformált limfociták igen érzékenyek. Specifikus antigénre vagy poliklonális mitogénre válaszoló limfocita klonok szelektíven eliminálódhatnak a makrofágok révén keletkező C3a hasadási termék hatására [14].

In vivo makrofág aktiválódás alakulhat ki protozoa infekció, BCG, elölt *Corynebacterium parvum*, poliaminok, valamint vírus infekció hatására. Az aktivált makrofágok a C3a keletkezése révén szólnak bele ezen infekciók patológiás hatásába.

A komplement elő is segítheti a limfocita proliferációt. A B-sejteken levő komplement receptorok az antigén okozta sejt-triggerben játszanak szerepet [28]. Az aktivált C3b kötődhet a B-sejt C3b receptorához, ami egy második jel lehet a B-sejt trigger számára, vagy a C3b közvetítésével alakulhat ki egy kooperáció a T- és B-sejt között.

5. A prosztaglandinok gátló hatása. Ez a vegyületcsoport ciklooxigenáció révén keletkezik telítetlen zsírsavakból, nevezetesen az arachinonsavból. A makrofágok különösen aktiválódás után főleg PGE2-t és 6-keto-PGF12-t termelnek, ami stabil metabolitja a PGI2-nek. Aktiváló ágensként hat a makrofágra a Con-A, a kolchicin [17], valamint krónikus gyulladáskeltők, ellenanyag antigén komplexek [25]. A vér monocitái és a szöveti makrofágok jelentős forrásai a prosztaglandin E-nek [30].

A prosztaglandinok gátló hatást fejtenek ki egérben az allograft rejekcióra, a mitogénekre vagy az antigénekre kialakuló celluláris immunválaszra, *in vitro* a szenzibilizált vvs-re adott ellenanyag-válaszra, a limfociták migráció gátló faktorának termelésére.

Gordon és mtsai [20] úgy magyarázza a prosztaglandinok szerepét, hogy a limfociták által aktivált makrofágok prosztaglandinokat szabadítanak fel, ami „feedback"-mechanizmuson keresztül vezet immunreguláció hoz.

6. Ciklikus AMP gátló hatása. Lehetséges, hogy a prosztaglandinok limfocitára való gátló hatása az endogén cAMP szint növelésén keresztül érvényesül. Az endogén cAMP növelése vagy a dibutiril-cAMP adása gátolja a DNS szintézist, így a limfociták mitogénre és antigénre adott válaszát befolyásolja [22, 26].

A makrofágok maguk is szintetizálnak cAMP-t. Aktivált limfocita termékek hatására a makrofágok adenilcikláz szintje emelkedik [16, 57]. Kétségtelen mindebből, hogy a cAMP gátolja a limfocita választ, de nem bizonyított, hogy ez egy lényeges immunregulációs mechanizmus lenne.

7. Az utóbbi évek eredményei az interferonnak immunregulációs szerepet tulajdonítanak. I-es és II-es típusú interferont különböztetnek meg. A II-es típusú interferon (IFN-γ) antigén stimulusra keletkezik. Az immunválaszra főleg a II-es típusú van hatással [68]. A hatás nem egyértelmű. Az antigénnel együtt adott interferon gátló hatású az ellenanyag-képzésre, míg a később beadott interferon növeli az ellenanyag-képzést [23]. Mitogén jelenlétében gátolja a helper T-sejt proliferációt, de aktuálisan növelheti a citotoxikus limfociták kifejlődését is.

Newcastle vírus vagy endotoxin hatására a nyúl peritoneális és alveoláris makrofágjai interferont termelnek. Makrofágok mellett T-sejtekre is szükség van az interferon termeléshez [37]. Az interferon képződés függ a makrofág állapotától, valamint a T-populáció összetételétől. Ha a hisztamin receptorral rendelkező T-szuppresszor sejteket kivonják, az interferon termelés csökken. Az interferon termelés a limfociták mitogénre és antigénre adott válaszának szuppressziójával jár együtt.

Mivel interferon termelődik parazitás és bakteriális, valamint vírus infekció alkalmával, magyarázható a fertőzéssel együttjáró immunválasz csökkenés a nem rokon antigénekkel szemben [7].

Az itt leírt számos stimuláló és szuppresszáló hatás feltehetően nem ugyanazon makrofágnak tulajdonítható [65]. A makrofágok különböznek egymástól nemcsak aktiváltságuk foka, hanem érettségi állapotuk szerint is. Az unitárius elmélet szerint a különböző differenciáltságú makrofágok rendelkeznek különböző funkciókkal. Elképzelhető viszont az is, hogy a makrofág rendszer is szubpopulációkra oszlik. Kétségtelen, mint már említettük, hogy a peritoneális makrofágok mintegy 35—50%-a hordoz a felületén Ia antigént. A makrofágok Ficoll-Uromiro vagy albumin grádiensen ülepítve szubpopulációkban helyezkednek el, melyek különböző morfológiai és funkcionális tulajdonságokkal rendelkeznek [72]. Mindez valószínűsíti a makrofág alosztályok létezését, és azt, hogy a különböző funkciókért más és más alosztály felelős.

IRODALOM

1. Allison, A. C. (1978) Mechanisms by which activated macrophages inhibit lymphocyte responses. *Immunological Rev.*, **40**, 3—27.
2. Askonas, B. A. and Roelants, G. E. (1974) Macrophages bearing hapten-carrier molecules as foci inducers for T and B lymphocyte interaction. *Eur. J. Immunol.*, **4**, 1—5.
3. Beller, D. I., Farr, A. G. and Unanue, E. R. (1977) Regulation of lymphocyte proliferation and differentiation by macrophages. *Federation Proc.*, **37**, 91—96.
4. Ben-Sasson, S. Z., Lipscomb, M. F., Tucker, T. F. and Uhr, J. W. (1977) Specific binding of T lymphocytes to macrophages. II. Role of macrophage-associated antigen. *J. Immunol.*, **119**, 1493—1506.
5. Bentley, C., Bitter-Suermann, D., Brade, V. and Hadding, U. (1976) *In vitro* synthesis of factor B of the alternative pathway of complement activation by mouse peritoneal macrophages. *Eur. J. Immunol.*, **6**, 393—399.
6. Byrd, W. J., Jacobs, D. M. and Amoss, M. S. (1977) Synthetic polyamines added to cultures containing bovine sera reversibly inhibit *in vitro* parameters of immunity. *Nature*, **267**, 621—623.
7. Calderon, J. and Unanue, E. R. (1974) The release of antigen molecules from macrophages characterization of the phenomena. *J. Immunol.*, **112**, 1804—1814.
8. Calderon, J., Kiely, J. M., Lefko, J. L. and Unanue, E. R. (1975) The modulation of lymphocyte functions by molecules secreted by microphages. *J. Exp. Med.*, **142**, 151—164.
9. Cardella, C., Davies, P. and Allison, A. C. (1974) Immune complex induce selective release of lysosomal hydrolases from macrophages. *Nature*, **247**, 46—48.
10. Cohn, Z. A. (1978) The activation of mononuclear phagocytes: Fact, fancy, and future. *J. Immunol.*, **121**, 813—816.
11. Dumonde, D. C., Kelly, R. H., Preston, P. M. and Wolstencroff, R. A. (1975) Lymphokines and macrophage function in the immunological response. *In:* Furth, R. (ed.): *Mononuclear phagocytes in immunity, infection and pathology*. Blackwell, Oxford, 675—698.
12. Farr, A. G., Dorf, M. E. and Unanue, E. R. (1977) Secretion of mediators following T lymphocyte-macrophage interaction is regulated by the major histocompatibility complex. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, **74**, 3542—3546.

13. Feldmann, M., Schrader, J. W. and Boylston, A. (1975) Macrophage-lymphocyte interaction *in vitro*. *In:* Furth, R. (ed.): *Mononuclear phagocytes in immunity, infection and pathology*. Blackwell, Oxford, 779—789.
14. Ferluga, J., Schorlemmer, H. U., Baptista, L. and Allison, A. C. (1978) Production of the complement clevage product, C_{3a}, by activated macrophages and its tumorolytic effects. *Clin. Exp. Immunol.*, **31**, 512—517.
15. Fishman, M. and Adler, F. L. (1963) Antibody formation iniciated *in vitro*. *J. Exp. Med.*, **117**, 595—602.
16. Gemsa, D., Steggemann, L., Menzel, J. and Till, G. (1975) Release of cyclic AMP from macrophages by stimulation with prostaglandins. *J. Immunol.*, **114**, 1422—1423.
17. Gemsa, D., Steggemann, L., Till, G. and Resch, K. (1977) Enhancement of the PGE, response of macrophages by concanavalin and colchicine. *J. Immunol.*, **119**, 524—529.
18. Gery, I. and Waksman, B. H. (1972) Potentiation of T-lymphocyte response to mitogens. *J. Exp. Med.*, **136**, 143—155.
19. Golde, D. W. and Cline, M. J. (1974) Regulation of granulation of granulopoiesis. *N. Engl. J. Med.*, **291**, 1388—1395.
20. Gordon, D., Bray, M. A., Morley, J. (1976) Control of lymphokine secretion by prostaglandins. *Nature*, **262**, 401—402.
21. Gyódi, K. E., Ónody, K. and Petrányi, Gy. (1979) HLA-DR (IA) antigenek a magyar populációban. *Orv. Hetil.*, **120**, 153—155.
22. Hadden, J. W. (1975) Cyclic nucleotides in lymphocyte function. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **256**, 352—364.
23. Heron, I., Berg, K. and Cantell, K. (1976) Regulatory effect of interferon on T cell *in vitro*. *J. Immunol.*, **117**, 1370—1373.
24. Hovi, T., Mosher, D. and Vaheri, A. (1977) Cultured human monocytes synthesize and secrete alpha-macroglobulin. *J. Exp. Med.*, **145**, 1580—1589.
25. Humes, J. L., Bonney, R. J., Pelus, L., Dahlgren, M. E., Sadowski, S. J., Kuehl, F. A., Jr. and Davies, P. (1977) Macrophages synthesize and release prostaglandins in response to inflammatory stimuli. *Nature*, **269**, 149—151.
26. Johnson, H. M., Blalock, J. E. and Baron, S. (1977) Separation of mitogen induced suppressor and helper activities during interferon production by cyclic AMP. *Cell. Immunol.*, **33**, 170—179.
27. Katz, D. H. and Benacerraf, B. (1972) The regulatory influence of activated T cells on B cell responses to antigen. *Adv. Immunol.*, **15**, 1.
28. Klaus, G. G. B. and Humphrey, J. H. (1977) The generation of memory cells. I. The role of C_3 in the generation of B memory cells. *Immunology*, **33**, 31—40.
29. Kung, J. T., Brooks, S. B., Jakway, J. P., Leonard, L. L. and Talmage, D. W. (1977) Suppression of *in vitro* cytotoxic response by macrophages due to induced arginase. *J. Exp. Med.*, **146**, 665—672.
30. Kurland, J. I. and Bockman, R. (1978) Prostaglandin E production by human blood monocytes and mouse peritoneal macrophages. *J. Exp. Med.*, **147**, 952—957.
31. Lai A Fat, R. F. M. and van Furth, R. (1975) *In vitro* synthesis of some complement components (C_{1q}, C_3 and C_4) by lymphoid tissues and circulating leukocytes in man. *Immunology*, **28**, 359—368.
32. Lee, S.-T. and Paraskevas, F. (1978) Macrophage-T cell interactions I. The uptake by T cells of Fc receptors released from macrophages. *Cell. Immunol.*, **40**, 141—153.
33. Lee, S.-T. and Paraskevas, F. (1979) Macrophage-T cell interactions. II. The uptake by T cells of fragments bearing Ia determinants released from macrophages. *Cell. Immunol.*, **48**, 1—14.
34. Lemke, H. and Opitz, H.-G. (1976) Function of 2-mercaptoethanol as a macrophage substitute in the primary immune response *in vitro*. *J. Immunol.*, **117**, 388—395.
35. Möller, G., Lemke, H. and Opitz, H.-G. (1976) The role of adherent cells in the immune response. *Scand. J. Immunol.*, **5**, 269—280.
36. Nakamura, S., Yoshinaga, M. and Hayashi, H. (1976) Interaction between lymphocytes and inflammatory exudate cell. *J. Immunol.*, **117**, 1—6.
37. Neumann, C. and Sorg, C. (1977) Immune interferon. I. Production by lymphokine-activated murine macrophages. *Eur. J. Immunol.*, **3**, 719—725.
38. Niederhuber, J. E. and Shreffler, D. C. (1977) Anti-Ia serum blocking of macrophage function in the *in vitro* humoral response. *Transplant. Proc.* IX, 875—880.
39. Niederhuber, J. E., Mayo, L. and Shreffler, D. C. (1978) Requirement of Ia positive macrophages in primary *in vitro* human response. *In:* McDevitt, H. O. (ed.): *Ir genes and Ia antigenes*. Academic Press, New York, 393—404.

40. Opitz, H. G., Opitz, U., Lemke, H., Flad, H.-D., Hewlett, G. and Schlumberger. H. D. (1977) Humoral primary immune response *in vitro* in a homologous mouse system: Replacement of fetal calf serum by a 2-mercaptoethanol or macrophage activated fraction of mouse serum. *J. Immunol.*, **119**, 2089—2094.
41. Paraskevas, F., Orr, K. B. and Lee, S.-T. (1979) Macrophage-T cell interactions. III. Production from T cells, under the influence of macrophages, of a factor which complexes Ig and antigen. *Cell. Immunol.*, **48**, 15—30.
42. Paraskevas, F. and Lee, S.-T. (1979) Macrophage-T cell interactions. IV. A new receptor on T cells: Ia antigens as receptors for Ig-antigen complexes which appear early after immunization. *Cell. Immunol.*, **48**, 31—42.
43. Persson, U., Hammarström, L., Möller, E., Möller, G. and Smith, C. I. E. (1978) The role of adherent cells in B and T lymphocyte activation. *Immunological Rev.*, **40**, 78—101.
44. Pierce, C. W. and Kapp, J. A. (1978) Functions of macrophages in antinody responses *in vitro*. *Fed. Proc.*, **37**, 86—90.
45. Piessens, W. F., Churchill, W. H., Jr. and David, J. R. (1975) Macrophage activated *in vitro* with lymphocyte mediators kill neoplastic but not normal cells. *J. Immunol.*, **114**, 293—299.
46. Polverini, P. J., Cotran, R. S., Gimbrone, M. A., Jr. and Unanue, E. R. (1977) Activated macrophages induce vascular proliferation. *Nature*, **269**, 804—806.
47. Remold-O'Donnel, E. and Remold, H. (1974) The enhancement of adenylate cyclase by products of activated lymphocytes. *J. Biol. Chem.*, **249**, 3622—3627.
48. Rosenthal, A. S. (1978) Determinant selection and macrophage function in genetic control of the immune response. *Immunological Rev.*, **40**, 136—152.
49. Rosenthal, A. S., Barcinski, M. A. and Rosenwasser, L. J. (1978) Function of macrophages in genetic control of immune responsiveness. *Fed. Proc.*, **37**, 79—85.
50. Sabin, F. R. (1923) Studies of living human blood cells. *Bull. John Hopkins Hosp.*, **34**, 277—281.
51. Schimpl, A., Wecker, E. (1972) Replacement of T-cell function by a T-cell product. *Nature*, **237**, 15—17.
52. Schimpl, A. and Wecker, E. (1975) A third signal in B cell activation given by TRF. *Transplant. Rev.*, **23**, 176—188.
53. Schorlemmer, H. U. and Allison, A. C. (1976) Effects of activated complement components on enzyme secretion by macrophages. *Immunology*, **31**, 781—788.
54. Schorlemmer, H. U., Bitter-Suermann, D. and Allison, A. C. (1977) Complement activation by the alternative path-way and macrophage enzyme secretion in the pathogenesis of chronic inflammation. *Immunology*, **32**, 929—940.
55. Schreiner, G. F. and Unanue, E. R. (1976) Membrane and cytoplasmic changes in B lymphocytes induced by ligand-surface immunoglobulin interaction. *Adv. Immunol.*, **24**, 38—165.
56. Shevach, E. M. (1976) The function of macrophages in antigen recognition by guinea-pig T lymphocytes. *J. Immunol.*, **116**, 1482—1489.
57. Springer, T., Galfré, G., Secher, D. S. and Milstein, C. (1979) Mac-1: A macrophage differentiation antigen identified by monoclonal antibody. *Eur. J. Immunol.*, **9**, 301—306.
58. Stadecker, M. J., Calderon, M., Karnovsky, M. L. and Unanue, E. R. (1977) Synthesis and release of thymidine by macrophages. *J. Immunol.*, **119**, 1738—1743.
59. Thomas, D. W., Yamashita, U. and Shevach, E. M. (1977) The role of Ia antigens in T cell activation. *Immunological Rev.*, **35**, 97—120.
60. Thomas, D. W., Clement, L. and Shevach, E. M. (1978) T lymphocyte stimulation by hapten-conjugated macrophages. *Immunological Rev.*, **40**, 181—204.
61. Unanue, E. R. and Cerottini, J.-C. (1970) The immunogenecity of antigen by bound to the plasma membrane of macrophages. *J. Exp. Med.*, **131**, 711—725.
62. Unanue, E. R. (1972) The regulatory role of macrophages in antigenic stimulation. *Adv. Immunol.*, **15**, 95—165.
63. Unanue, E. R., Kiely, J.-M. and Calderon, J. (1976) The modulation of lymphocyte functions by molecules secreted by macrophages. *J. Exp. Med.*, **144**, 155—166.
64. Unanue, E. R. and Kiely, J.-M. (1977) Synthesis and secretion of a mitogenic protein by macrophages: description of a superinduction phenomenon. *J. Immunol.*, **119**, 925—931.
65. Unanue, E. R. (1978a) Macrophage function in immunity. *Fed. Proc.*, **37**, 77—78.
66. Unanue, E. R. (1978b) The regulation of lymphocyte functions by the macrophage. *Immunological Rev.*, **40**, 227—255.

67. YAMASHITA, U. and SHEVACH, E. M. (1977) The expression of Ia antigens on immunocompetent cells in the guinea-pig. II. Ia antigens on macrophages. *J. Immunol.*, **119**, 1584—1596.
68. YOUNGNER, J. S. and SALVIN, S. B. (1973) Production and properties of migration inhibitory factor and interferon in the circulation of mice with delayed hypersensitivity. *J. Immunol.*, **111**, 1913—1921.
69. VASSALLI, J.-D. and REICH, E. (1977) Macrophage plasminogen activator: induction by products of activated lymphoid cells. *J. Exp. Med.*, **145**, 429—437.
70. VIRELIZIER, J. L., VIRELIZIER, A. M. and ALLISON, A. C. (1976) The role of circulating interferon in the modification of immune responsiveness by mouse hepatitis virus (MHV-3). *J. Immunol.*, **117**, 748—753.
71. WAHL, L. M., WAHL, S. M., MERGENHAGNE, S. E. and MARTIN, G. R. (1975) Colagenase production by lymphokine-activated macrophages. *Science*, **187**, 261—263.
72. WALKER, W. S. (1974) Functional heterogeneity of macrophages: subclasses of peritoneal macrophages with different antigen-binding activities and immune complex receptors. *Immunology*, **26**, 1025—1037.
73. WARD, P. A., UNANUE, E. R., GORALNICK, S. and SCHREINER, G. F. (1977) Chemotaxis of rat lymphocytes. *J. Immunol.*, **119**, 419—421.

ROLES OF MONONUCLEAR PHAGOCYTES (MP) IN HOST DEFENCE
II. ROLES OF MP IN THE IMMUNE RESPONSE

Kávai, Mária

Department of Pulmonary Diseases, Division of Medicine,
University Medical School of Debrecen, Debrecen, Hungary

The one of the three well-defined function of mononuclear phagocytes is reaction with lymphocytes in the immune response. This interaction has two major components: the first is the induction of response to antigen, the second is in the expression of cell-mediated immunity.

The role of the macrophage in presentation of antigen is quite complex and involves interaction with both T and B lymphocytes. The interaction is restricted to certain T cell-dependent antigens and also has contain genetic restrictions. The Ia positive macrophage is critical to the antigen presentation. Macrophages catabolize the bulk of most antigen but retain some molecules in immunogenetic form for long time.

Macrophages secrete a number of molecules that can have a profound influence on lymphocyte function. Macrophages and factors released by macrophages can induce proliferation and differentiation of B and T cells.

Not only do macrophages effect lymphocyte function, but the converse is also true. Certain lymphocyte products called mediators or lymphokines can influence macrophage composition, metabolism, and functional status. The activated macrophages are generally a larger, more effective cells with a more active metabolism and store of hydrolytic enzymes.

Biológia, 28, 1980, 241—246

AZ ANURÁK DERMÁLIS PIGMENTSEJTJEINEK BIOLÓGIAI REAKCIÓI

KAPA ESZTER

Semmelweis Orvostudományi Egyetem Biológiai Intézete, Budapest

Beérkezett: 1980. március 24.

Kulcsszavak: tiroxin, metiltiouracil, mitózis, receptor

Bevezetés

A metamorfózist, az amfibiumok igen fontos és biológiailag nem teljesen tisztázott fejlődési szakaszát széles körben és hosszú idő óta kutatják. A kutatás központjában a morfogenetikus hormon, a tiroxin metamorfózisra gyakorolt hatásának vizsgálata áll [2, 5, 6, 10].

Kevéssé ismert, hogy a metamorfózis kapcsán a morfogenetikus hormonok milyen hatással vannak speciálisan a pigmentáció kialakulására, illetve a pigmentsejtek hisztofiziológiai változásaira.

Nem ismeretesek az amfibiumokra vonatkozóan adatok, hogy a pajzsmirigy tevékenysége és ezen keresztül a metamorfózist gátló anyagok miként hatnak a pigmentációra.

Jelen kísérleteinkben a polidendritikus epidermális pigmentsejtek topográfiai helyzetével kapcsolatos mennyiségi és minőségi sajátosságokat vizsgáltuk morfogenetikus hormon —tiroxin— és pajzsmirigy antagonista —metiltiouracil— hatására.

Anyag és módszer

Kísérleteinkhez *Rana arvalis* lárvákat (ebihalakat) használtunk. A kísérlet kezdetén az állatok kora a TAYLOR—KOLLROS szerinti V. fejlődési stádium volt. A békapetéket magunk gyűjtöttük Szászhalombattán és laboratóriumi körülmények között klórmentes vezetéki vízben tenyésztettük. Az állatokat a vizsgált időszakban az adott fejlődési stádiumnak megfelelően csalánporral, friss salátával, paradicsommal tápláltuk.

Kísérleteinket két csoportban 50—50 kontrollal, összesen 150 állaton végeztük. A két kísérleti csoporthoz egy közös kontroll csoport tartozott. Tartós kezelést alkalmaztunk, az állatokat 7 alkalommal kezeltük másodnaponként, és az utolsó kezeléstől számított 4. napon dekapitálással öltük le. Az I. kísérleti csoport állatainak propilénglikolban oldott tiroxint (T_4) adtunk be (Fluka) injekció formájában a farokba intramuszkulárisan 10^{-6} M-os töménységben, állatonként 0,02 ml-t. A II. kísérleti csoportban az állatok ugyancsak a farok területére intramuszkulárisan 0,02 ml metiltiouracilt (Fluka) kaptak, melyet 10^{-6} M-os töménységben propilenglikol + Ringerben oldottunk. A kontroll állatok 50%-ának hasonló módon azonos mennyiségű oldószert adtunk be, 50% kezeletlen kontroll volt.

A leölt állatok egy csoportjából a dorso-caudalis felületről vett bőrt Bouin rögzítő keverékbe tettük, Histoplastba ágyaztuk és metszettük.

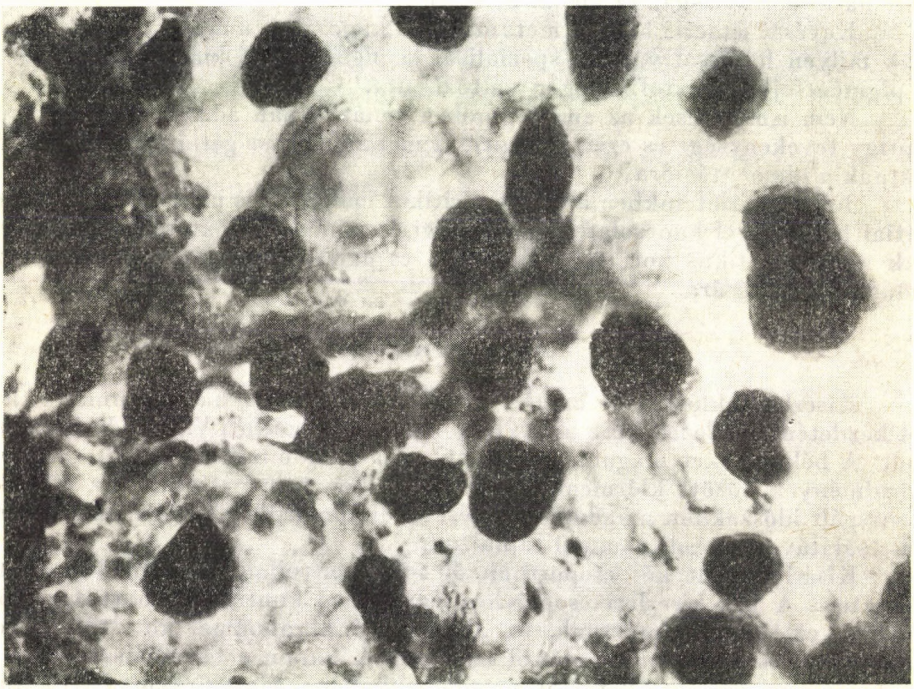
Az állatok másik csoportjából a leölés után vett bőrt, illetve pigmentsejteket *in vitro* körülmények között vizsgáltuk: MAXIMOW-tenyészetekben, illetve „H"-csőben. A tenyészetekhez NIU-TWITTY [11] táptalajt adtunk. A szövetkultúrákat folyamatos értékelés mellett 30 napig tartottuk fenn 20—22 °C-on, sötétben. A táptalajt 96 óránként steril körülmények között cseréltük.

A pigmentsejteket mikroszkóppal 10×45 nagyítással vizsgáltuk. Állatonként 25 látótérben számoltuk a sejteket. A kapott adatokat átlagoltuk és kiszámoltuk a szórást is.

Eredmények

Kontroll-csoport

A melanofórák rövid nyúlványokkal rendelkeznek, sötét színűek. A melanofórák egymás melletti elhelyezkedése dorso-caudalis irányban sűrűbbé válik. A pigmentsejtek száma egységnyi mezőben 37 (*I. táblázat, 1. ábra*).



1. ábra. Pigmentsejtek a kezeletlen kontroll állatokban. Nagyítás: 450×
Fig. 1. Melanophores of untreated control larvae (×450)

Metiltiouracil kezelés hatása

A pajzsmirigy funkcióját gátló anyagok közé tartozó metiltiouracil *in vivo* körülmények között a pigmentsejtekben a szemcsék diszperzióját és a sejt megnyúlását eredményezte. A szemcsék jól láthatóan a nyúlványokba is áthúzódnak (*2. ábra*). Ami a sejtek számát illeti, a kontrollhoz viszonyítva

I. táblázat

A pigmentsejtek mennyisége a kontroll és a kísérleti állatokban
Table 1. Melanophore count in control and experimental larvae

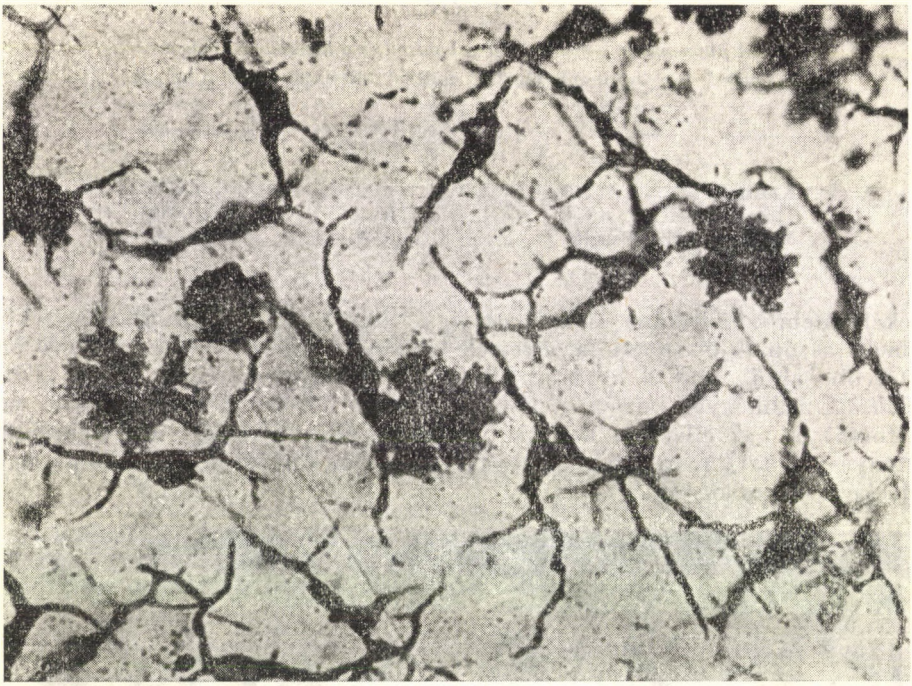
Csoport	A melanofórák száma egységnyi mezőben	Standard eltérés
Kontroll	37,2	± 8,613
Tiroxin kezelt	63,6	±16,730
Metiltiouracillal kezelt	33,9	±16,336

csekély, nem szignifikáns csökkenést figyeltünk meg (*I. táblázat*). A sejtekben a melanoszómák diszperziója, a sejtek kiterülése eredményeként a lárva bőre sötétebb színű, mint a kontroll állatban. A metiltiouracillal kezelt állatok *in vitro* körülmények között tovább tenyésztett bőrében a pigmentsejtek nem változtak annak ellenére, hogy a kezelés az állatok leölésével befejeződött. A tenyészeteket a továbbiakban csak a táptalajon tartottuk. Osztódó pigmentsejteket nem találtunk.

2. ábra. Metiltiouracillal kezelt ebihal bőségesen elágazó pigmentsejtjei. Nagyítás: 450×
Fig. 2. Melanophores of methyl-thyouracil treated larvae showing profuse branching (×450)

A tiroxin kezelés hatása

A tiroxinnal kezelt állatokban a melanofórák nagyfokú kontrakcióját észleltük. A sejtek lekerekedtek, azokon nyúlvány alig látszik (*3. ábra*). Elő-



3. ábra. Tiroxinnal kezelt ebihal dermális pigmentsejtjeinek nagyfokú koncentrációja. Nagyítás: 450×

Fig. 3. Melanophores of thyroxine treated larvae showing high contraction (×450)

fordul, hogy a sejtek megmaradnak nyúlványos formában, azonban ezek a nyúlványok üresek, pigmentszemcsét nem tartalmaznak.

A sejtek száma rendkívül megnőtt, egységnyi területen 63 sejt volt található. A kísérleti csoportba tartozó tiroxinnal kezelt állatok bőre jelentősen világosabb a kontroll csoport egyedének bőrszínénél a nagy sejtszám ellenére, mivel a sejtek kontrahált állapotban vannak.

Hasonlóan a metiltiouracillal kezelt, majd *in vitro* vizsgált bőr pigmentsejtjeihez, ebben a kísérleti csoportban is megőrizték a pigmentsejtek a tiroxin kezelés után felvett jellegzetességeiket. Osztódó pigmentsejteket nem találtunk.

Megbeszélés

Az anurákban a tiroxin és a metiltiouracil kezelés hatására a pigmentsejtek tartós változását figyeltük meg. A változás jelentkezett a sejtek számában, valamint a sejtek pigmenttartalmának citoplazmán belüli elhelyezkedésében.

A tiroxin kezelés hatására megnőtt pigmentsejt mennyiséget azzal magyarázhatjuk, hogy a tiroxin mint morfogenetikus-, a metamorfózist serkentő hormon az érett állapot kialakulásával párhuzamosan a pigmentáció kialakulását is serkenti. A tiroxin állandó szintű jelenléte az állatok szerve-

zetében folyamatosan biztosítja azt a szöveti differenciálódási folyamatot, melynek során a pigmentsejtek megjelennek.

A sejt, a sejtmembrán differenciálódása magába foglalja a hormon felfogására alkalmas receptor érését is [3, 4].

A fiatal embrionális korban végzett hormonkezelés eredménye tartós hatásnak bizonyult. A kezelés befejezése után, további 28 napig fenntartott szövettenyészetben a pigmentsejtekben továbbra is észlelhető volt az a hatás, amely őket kora embrionális korban érte (*II. táblázat*).

II. táblázat

A pigmentsejtek mennyisége a kontroll és a kísérleti állatokban in vitro *körülmények között*

Table 2. Melanophore count in control and experimental larvae *in vitro*

Csoport	A melanofórák száma egységnyi mezőben	Standard eltérés
Kontroll	30,0	± 4,22
Tiroxin kezelt	54,2	±12,47
Metiltiouracillal kezelt	28,8	±14,52

Tenyészeteink nem organ tenyészetek voltak, nem tapasztaltuk a bőr átalakulását abban a formában, amely az érett (adult) állatokra jellemző és amely bőrszerkezet eltér az embrionális bőrtől, azonban a kialakult pigmentsejtek mind az embrionális, mind az érett állatok bőrében azonosak.

Az a tény, hogy osztódó pigmentsejteket sem tiroxin, sem metiltiouracil kezelés kapcsán sem találtunk, megerősíti saját korábbi vizsgálatainkat ami szerint a pigmentsejtek az amfibiumokban hámsejt differenciálódás útján alakulnak ki [7]. Sztarodubov és mtsai [12] *Rana temporaria*, *Rana esculenta*, *Xenopus laevis* és egyes *Bufo* fajokban a bőrben csekély számban a 20. fejlődési stádiumban mitotikusan osztódó pigmentsejteket találtak.

A pajzsmirigy peroxidáz enzimének működését gátló metiltiouracil kezelés a pigmentsejtek számában csökkenést eredményezett, bár ez a kontrollhoz viszonyítva nem volt szignifikáns. Úgy tűnik, a metiltiouracil közvetsen hatást fejt ki a *Rana arvalis* lárvák melanofóráira, illetve azokra a hámlejtekre, amelyekből később melanofórák alakulnának [7]. Ez a hatás érvényesül abban a korai stádiumban is, amikor a pajzsmirigy még nem aktív.

Összefoglalás

A szerző a kétéltűek metamorfózisával kapcsolatban a pigmentsejtek változásait vizsgálta, illetve a pigmentsejtek reakcióját a metamorfózist szabályozó tiroxin, és a metamorfózist gátló metiltiouracil hatására.

Tiroxin kezelésre a pigmentsejtek számának nagymértékű növekedését, a sejtekben a pigmentszemcsék tömörülését és a korábban polidendritikus sejtek lekerekedését figyelte meg. A metiltiouracil kezelés a pigmentszemcsék diszperzióját a sejtek szétterülését okozta, a sejtek száma a kontrollhoz képest nem nagymértékben, de szignifikánsan nőtt.

In vitro körülmények között egyértelműen a sejtek 30 nap múlva is megtartották változásaikat.

Megállapítható, hogy a tiroxin a pigmentsejtek folyamatos differenciálódását segíti elő a hámsejtekből, ez a differenciálódás a hormonreceptor érését is magába foglalja. A tiroxin antagonista metiltiouracil közvetlen hatást gyakorol a hámsejtekre, amelyekből a melanofórák differenciálódnak, ez a hatás már akkor is érvényesül, amikor a pajzsmirigy még inaktív.

IRODALOM

1. Clark, N. B. and Kaltenbach, J. C. (1961) Direct action of thyroxine on skin of the adult newt. *Gen. Comp. Endocrinol.*, **1**, 513—518.
2. Cohen, P. P., Brucker, R. T. and Morris, S. M. (1978) Cellular and molecular aspects of thyroid hormone action during amphibian metamorphosis. *In:* Li, C. H. (ed.): *Hormonal Proteins and Peptides.* Vol. **6**, 273—381. Academic Press, New York.
3. Csaba, G. (1975) Néhány gondolat a hormonreceptorok filo- és ontogeneziséhez. *Biológia*, **23**, 37—44.
4. Csaba, G. (1978) A hormonreceptorok fejlődése. *Orv. Hetil.*, **119**, 123—130.
5. Derby, A. (1975) The effect of prolactin and thyroxin on tail resorption of *R. pipiens: in vivo* and *in vitro*. *J. Exp. Zool.*, **193**, 15—20.
6. Feuer, L., Török, L. J., Kapa, E. and Csaba, G. (1978) The effect of gamma-L-glutamyl-taurine (Litoralon) on the amphibian metamorphosis. *Comp. Biochem. Physiol.*, **61 C**, 67—71.
7. Kapa, E., Berlin, I. and Csaba, G. (1974) Effect of melatonin-like substances on the hormone-reception of pigment cells in Amphibians. *Acta biol. Acad. Sci. Hung.*, **25**, 299—306.
8. Kollros, J. and Kaltenbach, J. (1952) Local metamorphosis of larval skin in *Rana pipiens*. *Physiol. Zool.*, **25**, 163—170.
9. Lynne, E. and Lippner, H. (1975) Acceleration of thyroxine-induced metamorphosis by prolactin antiserum. *Gen. Comp. Endocrinol.*, **25**, 462—466.
10. Lynne, E. and Lippner, H. (1976) Amphibian metamorphosis: the role of thyrotropin-like hormone. *Gen. Comp. Endocrinol.*, **29**, 333—336.
11. Nieu, M. C. and Twitty, V. C. (1953) The differentiation of gastrula ectoderm in medium conditioned by axial mesoderm. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **39**, 985—989.
12. Sztarodubov, Sz. M., Golicsenko, V. A. and (1979) Mitoticseszkoe gyelenije dermalnüh melanoforov licsinok bezhvosztüh amfibii. *Dokladü AK Nauk SZ.SZ.SZ.R.*, **256**, 721—724.
13. Taylor, A. C. (1946) Stages in the normal development of *Rana pipiens* larvae. *Anat. Rec.*, **94**, 7—12.
14. Weber, R. (1962) Induced metamorphosis in isolated tail of Xenopus larvae. *Experientia*, **18**, 84—85.

THE BIOLOGICAL REACTIONS OF THE MELANOPHORES OF ANURANS

Kapa, Eszter

Department of Biology, Semmelweis University Medical School, Budapest, Hungary

Changes of pigment cells in connection to metamorphosis of amphibia and the effect of thyroxine and inhibiting substance, methyl thyouracil was analysed.

After thyroxine treatment the considerable increase of melanophores was observed. The pigment granules concentrated in the cells and they for rounded polydendritical cells. Methyl-thyouracil treatment caused the dispersion of pigment granules and flattening of the cells. The number of the cells significantly — but in a lesser extent — increased.

Under *in vitro* conditions the cells unambiguously kept their changes after 30 days, as well.

It can be established, that thyroxine stimulates the continuous differentiation of melanophores from epidermal cell. This differentiation induces the maturation of the hormon receptors. Thyroxine antagonist methyl-thyouracil has a direct effect on epidermal cells, from which the melanophores become differentiated. This influence is effective even then, when the thyroid gland is still inactive.

MTA Könyvtára Periodika 1 81/3954 n.

MAGYAR TUDOMÁNYOS AKADÉMIA KÖNYVTÁRA

PSZICHOLÓGIA

Az MTA Pszichológiai Intézetének gondozásában megjelenő

új folyóirat

A tudományág második magyar nyelvű szakmai fóruma

A folyóiratban olvashatók:

— beszámolók eredeti alapkutatásokról
— elemzések a pszichológia átfogó kérdéseiről
— beszámolók interdiszciplináris kutatásokról
— elemző szemlék a pszichológia egyes területeinek legfrissebb eredményeiről
— kritikai reflexiók, recenziók

Az 1981-es évfolyam tartalmából:

KARDOS LAJOS: Az emlékezés két funkciója
RANSCHBURG JENŐ: A nemi identitás fejlődése
MARTON LAJOSNÉ: Az állandó tér észlelése
ENGLÄNDER TIBOR, FARKAS ÉVA: Bizonytalanság és mágikus paraméterek
BUDA BÉLA: A tudattalan szemantikai elmélete
MÉREI FERENC és munkatársai: A pszichodráma játék formalizálása
PLÉH CSABA: Mondatértelmezés kisgyermekkorban

Az első szám 1981 januárjában jelent meg

Terjeszti a Magyar Posta

Előfizethető bármely postahivatalban, a kézbesítőknél és a Posta Központi Hírlapirodánál (PKHI, Budapest V., József nádor tér 1. 1900) közvetlenül vagy postai utalványon, valamint átutalással a PKHI 215-96162 pénzforgalmi jelzőszámra.

Indexszám: 25.709

A kiadásért felel az Akadémiai Kiadó igazgatója
Műszaki szerkesztő: Sándor István
A kézirat nyomdába érkezett: 1980. okt. 7. — **Terjedelem:** 10,85 (A/5) ív

81.8858 Akadémiai Nyomda, Budapest — Felelős vezető: Bernát György

TARTALOM

MARX GYÖRGY: Az életjáték 127

ÚJHELYI MÁRIA: Az evolúciós folyamatok strukturális leírása 199

KÁVAI MÁRIA: A mononukleáris fagociták szerepe a gazdaszervezet védekező mechanizmusában I. 211

KÁVAI MÁRIA: A mononukleáris fagociták (MP) szerepe a gazdaszervezet védekező mechanizmusában II. Az MP szerepe az immunológiai védekezésben 227

KAPA ESZTER: Az anurák dermális pigmentsejtjeinek biológiai reakciói 241

Ára: 26 Ft
Előfizetés egy évre: 52 Ft

INDEX: 26.073
ISSN: 0133—3844

INDEX

BIOLÓGIA (Budapest)
28/2 (1980)

MARX, G.: The Game of Life 127

ÚJHELYI, MARIA: Structural Interpretation of Evolutionary Processes 199

KÁVAI, MARIA: Roles of Mononuclear Phagocytes in Host Dependence I. 211

KÁVAI, MARIA: Roles of Mononuclear Phagocytes (MP) in Host Dependence II. Roles of MP in the Immune Response 227

KAPA, ESZTER: The Biological Reactions of the Melanophores of Anurans 241