

A KÁLIUM-REVERZÍÓ CSILLÓMECHANIZMUSÁRÓL

PÁRDUCZ BÉLA és MÜLLER MIKLÓS

Bevezetés

Régóta ismeretes, hogy az egysejtű szervezetek a legkülönbözőbb, tehát mechanikai, elektromos, vegyi és hőhatásokra jellegzetes reakcióval, a test helyváltoztatási irányának időleges megfordulásával válaszolnak. Különösen szembeűnő jelenség a természetes feltételek mellett is szüntelenül helyüket változtató csillós egysejtűek esetében, ahol bizonyos meghatározott erejű külső ingerekre az előretartó mozgás hirtelen hátrálásba csap át, — nyilván amiatt, mert az addig kaudális irányban csapkodó csillók a mellső testvég irányában kezdenek csapkodni. Az aktív csapásiránynak ez az átfordulása, az ún. *reverzió*, tarthat csupán a másodperc töredékéig, bizonyos körülmények között azonban több percig is elhúzódhat.

Amint a vizsgálatok során később kiderült, a reverziót kiváltó vegyi anyagok közül legaktívabbak az egyvegyértékű kationok és különösen kiemelkedik közülük a kálium [3, 4, 8]. Mivel pedig éppen ez az ion fontos szerepet játszik a magasabbrendű szervezetek ingerületi és kontrakciós folyamataiban is, érthető az az egyre fokozódó érdeklődés, amellyel a kutatás az utolsó két évtizedben a jelenség felé fordult. A nagy lendülettel megindult vizsgálatok hátterében az az elgondolás húzódott meg, hogy talán itt, tehát a funkcionális egységet képviselő egyetlen sejt szintjén, esetleg sikerül egy tipikus reakciófolyamatot lépésről lépésre nyomon követni és minden vonatkozásában tisztázni. Ennek a munkának eredményeként számos részletkérdés ma már tisztázottnak tekinthető. Így kísérletekkel igazolták, hogy a kálium hatékonysága a kalciumnak a sejttesten belüli akkumulációjától függ, noha az utóbbi önmagában a reakciót nem képes kiváltani [2, 4]. Megállapították ugyanakkor azt is, hogy egyéb ionok, továbbá különböző anyagszere-inhibitorok a reakció időtartamát nagymértékben befolyásolják [6], hogy magának a káliumnak van egy optimális koncentrációja, amely a reverziót indukálja [4] s hogy a jelenség a sejttest elektronegatív belső töltésének csökkenésével kapcsolatos [5, 9]. Kiderült tehát, hogy ennek a kezdetben egyszerűnek vélt mozgásválasznak alapját már bonyolult fiziko-kémiai és biokémiai folyamatok képezik, amelyekben fermentrendszeres és ionok egyaránt fontos szerepet játszanak. Ilyen körülmények között érthető, hogy az évtizedekkel ezelőtt

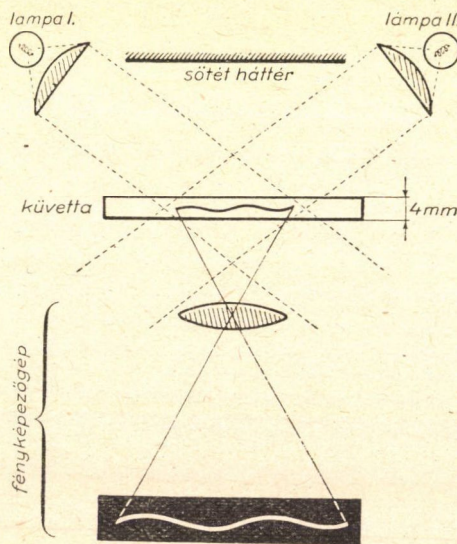
a legkülönbözőbb irányban megindult szívós kutatómunka ellenére még ma is távol vagyunk attól, hogy a jelenség lényegét maradék nélkül megmagyarázhassuk.

A leküzdendő metodikai nehézségek ugyanis rendkívül súlyosak. Az átlagosan $10\ \mu$ hosszú, csak tized mikron vastag, a környezetével csaknem azonos fénytörésű csillók villámgyors csapkodását még a mozgásukban mesterségesen akadályozott példányokon sem tudjuk megfigyelni, még kevésbé lehetséges ez akár a szabad, zavartalan helyváltoztatásmód, akár pedig a gyors mozgásreakciók kifejtése közben. Így, túlmenően azon, hogy a kálium hatására a test háladási iránya megfordul, úgyszólván semmi bizonyosat sem tudunk a reverzió alapját képező csillómechanizmusról. De nincs megbízható regisztráló módszerünk magának a csillótevékenységből származó ingermozgásnak kvalitatív vagy kvantitatív elemzéséhez sem s a kísérletező különböző tényezők és ágensek hatására, legtöbbször csupán a fellépő mozgásváltozások szubjektív megfigyelése alapján, ill. a reakció esetenkénti időtartamából tud következtetni.

Anyag és módszer

Vizsgálati objektumaink a *Paramecium multimicronucleatum* tisztavonalú tenyészetének egyedei voltak. A salátaönteten tenyésztett állatokat a vizsgálat előtt 24 órával centrifugálással dúsítottuk, majd peptonmentes LOZINA—LOZINSZKIJ-oldattal (0,01% NaCl, 0,001% KCl, 0,001% CaCl_2 , 0,001% MgCl_2 , 0,002% NaHCO_3) centrifuga segítségével átmostuk és az oldatban hagytuk. A reverziót LOZINA—LOZINSZKIJ-oldatban 0,0125 M koncentrációban oldott KCl-lel váltottuk ki.

A reverzió fiziológiai mechanizmusának megismerése érdekében két módszert alkalmaztunk párhuzamosan.



1. ábra. A *Paramecium* mozgáspályájának fényképezésére szolgáló készülék vázlata

Az élő állat mozgását és mozgásának változásait fotografikus úton regisztráltuk, olyan készülék segítségével, amelyet WINGO és BROWNING [14], LENGEROVÁ [7] és FERGUSON [1] vizsgálatai alapján terveztünk.* A készülék lényege egy sötét háttér előtt elhelyezett és hátulról 45° szögben megvilágított lapos küvetta (1. ábra) [1]. A küvettában úszó, erősen megvilágított véglénytest elmozdulása a küvetta előtt elhelyezett fényképezőgép segítségével 5–15 másodperces megvilágítással leképezhető. A fényforrás és a küvetta közé helyezett forgó szektor segítségével a fénysugarat másodpercenként megszakíthatjuk, és így a másodpercenként megtett utat is lemérhetjük a felvételen. Ily módon a mozgáspálya és a sebesség tekintetében a normális helyváltoztatáshoz képest bekövetkező minden változás pontosan regisztrálható és elemezhető.

Az osmium-haematoxylines gyorsrögzítő eljárás [10] igénybevételével sikerül az egysejtű csillóit a hátrálás egyes stádiumaira jellemző pillanatnyi mozgásállapotukban egyidejűleg megdermeszteniünk s így a csillóbunda tevékenységét az egész reakció folyamán és körben az egész testfelületen lépésről lépésre rekonstruálnunk.

Kísérleti eredmények és megvitatásuk

A 2. ábra olyan példányok mozgáspályáját tünteti fel, amelyek természetes környezetükben és ingerek szempontjából gyakorlatilag homogén miliőben változtatták helyüket. A látótér közepén hosszanti irányban végigfutó szabályos hullámvonal a valóságban egy térgörbét képvisel, a *Paramecium* ugyanis rendszeresen úzótt helyváltoztatásmódja közben balracsavarodó pályán halad előre. A néhány másodperc alatt megtett mozgáspálya az 1 mp-es



2. ábra. *Paramecium* normális mozgáspályája. Fénymegszakítás másodpercenként. $10\times$

időközökben megszakított megvilágítás következtében kisebb szakaszokra tagolódik. Ezeknek az útvonalszakaszoknak a hosszúsága egyforma, annak jeleként, hogy az állat az egész expozíciós idő alatt mindvégig egyenletes sebességgel mozgott.

A zavartalan előrefelé úzás közben a gyorsrögzítő eljárással megdermesztett példányokon (3. és 4. ábra) a csillózat következetesen ugyanazt a mustrázatot mutatja: az egyes csillók pillanatnyi mozgáshelyzeteiből a testfelületen egyenletesen elosztott és kb. 45° -os dőlésszöggel balracsavarodó hullámok rajzolódnak ki. Ez a hullámrendszer korábbi vizsgálatok szerint két spontán folyamat eredményeként jön létre [11, 13]. Az egyik az egyes csillók saját autonóm, felülről nézve az óramutató járásával ellentétes irányú és egyenletes körözése. Ez mindaddig tart, amíg a szabályos időközökben (átlag $1/_{25}$ mp-enként) a hátsó testvégen keletkező és a sejt felszínes rétegében előrefelé suhanó ingerülethullámok a csillóit pillanatnyi helyzetéből az ízesü-

* A készülék összeállításáért KUTASI FERENC úrnak tartozunk őszinte hálával és köszönettel.

lési pont irányában erőteljes kicsapásra nem készítetik. Amint az ingerület-hullám tovahalad, a csilló folytatja balraköröző mozgását mindaddig, míg a következő ingerüethullám el nem éri. A normális előretartó úszás jellegzetessége, hogy a kicsapás a csillónak mindig a balra előre felé dőlő helyzetéből történik és így *jobbra hátra* irányul. Az összcillózat csapkodó tevékenységének eredményeként tehát — figyelembevée a száj előtti csillómező némileg



3. ábra. Ingermentes környezetben előrehaladó *Paramecium* csillómustrázata hátoldáról.

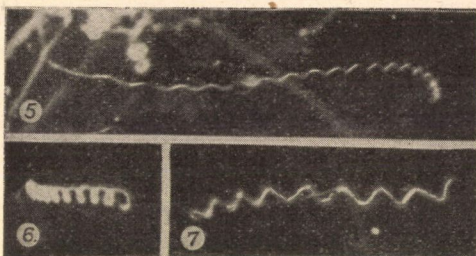
4. ábra. Ua. a szájteknő felől. Osmium-haematoxylines gyorsrögzítés, 380×

eltérő csapásirányát is — az állat maga *szabályos balracssavarodó* pályán halad előre, amint azt az előző képen láttuk.

Ha már most az állatokat pipetta vagy üvegkacs segítségével a LOZINA—LOZINSZKIJ-oldatból KCl-oldatba helyezzük, az oldattal való érintkezés pillanatában az előretartó mozgás átesik a reverzióba, valamennyi állat heves jobbrapergés közben hátrafelé kezd úszni. 0,0125 *M* koncentráció mellett a hátrálás 15—25 mp-ig tart (5. ábra).

A kapott mozgáspálya kezdetben csaknem szabályos egyenest képvisel, rövidesen azonban egyre inkább csavarmentessé válik. Mikroszkóp alatt

megállapítható, hogy a mellső, a mozgás irányát tekintve most hátrafelé eső testvég egyre nagyobb átmérőjű csavarmeneteket ír le, annak jeleként, hogy az eddig körben egyenletes eloszlású hajtóerő asymmetrikussá válik. Ezzel párhuzamosan a mozgás sebessége is fokozatosan lelassul. A hátráló mozgás végül teljesen leáll s az állat a test valamely pontja, legtöbbször a hátsó testvég mint központ körül egyhelyben *köröz*. Ez a köröző mozgás fokozatosan átmegy egy olyan mozgásformába, amikor az állat most már a mellső pólussal a haladás irányába tekintve egy, a testén kívül fekvő pont körül *kering*. A körpálya átmérője hozzávetőlegesen a test hosszával egyenlő (6. ábra). A keringés időtartama a hátrálás tartamának többszöröse. A körpálya lassan egy megnyúló és egyre inkább a normális helyváltoztatásra emlékeztető balracsavarodó spirálisba megy át (7. ábra).

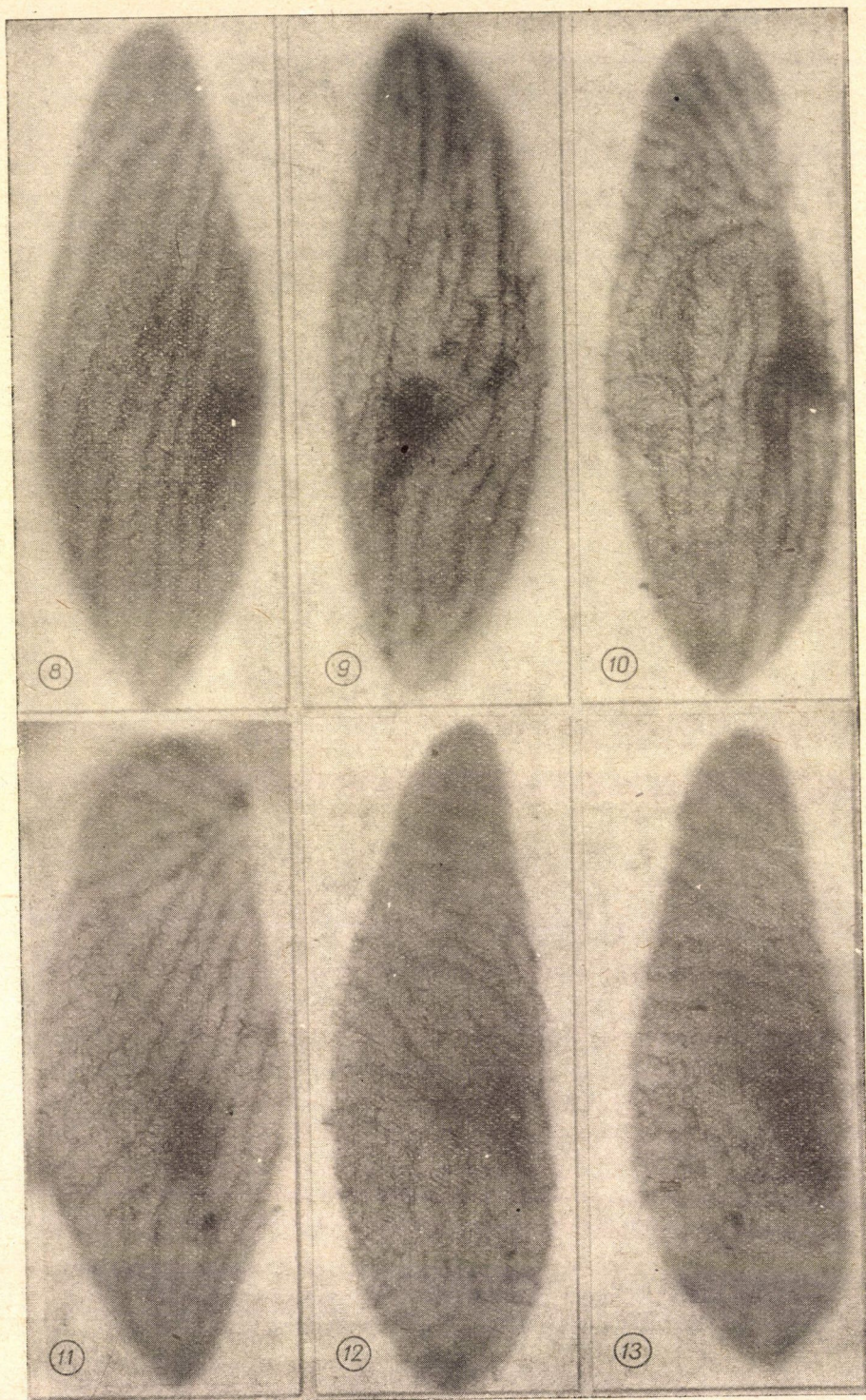


5., 6. és 7. ábra. Káliumklorid oldatba hehelyezett *Paramecium* mozgáspályájának egymásután' szakaszai. Expozíció: 10", 10×

A hátráló állapotokat a mozgás különböző szakaszaiban a gyorsrögzítő eljárás segítségével megdermesztve közelebbi bepillantást nyerhetünk a reverzió csillómechanizmusába is.

A 8. és 9. ábrákon látható példányok megrögzítése a hátrálás megindulásától számítva $\frac{1}{2}$ mp múlva történt. A testfelületen a csillók most is metachronikus hullámokba rendeződtek, ezek irányítottsága azonban különbözik a normális mozgás 45 fokos dőlésszögű és balracsavarodó hullámtarajaitól, mert a hát- és hasoldalon egyaránt rendszeresen csaknem hosszanti, kissé jobbracsavarodó lefutásúak. A készítmények mikroszkopikus elemzése azt mutatja, hogy az egyes csillók aktív csapása is módosult a hullámokon belül a normális helyváltoztatáshoz képest, mert most a testen csaknem teljesen jobbra, kissé a mellső testvég felé irányul. Nyilvánvaló, hogy ilyen, a testfelületen körben egyenletesen eloszlott és azonos erejű hajtóerők összegeződéséből csakis egy egyenes vonalú hátráló mozgásforma jöhet létre, a hátrálásnak azon módja tehát, amilyent az élvemegfigyelés és a pályaregisztráló módszer segítségével a reverzió kezdeti szakaszában kaptunk.

A következő, a reverzió későbbi időpontjaiban megdermesztett példányokon (10—13. ábra) a hátsó testfélen kezdetben változatlanul megkapjuk



a hátráló mozgás jellegzetes hullámmustrázatát (meredek, csaknem hosszanti lefutású hullámtarajok), ugyanakkor azonban a mellső testvég körül — hátrafelé fokozatosan kiterjeszkedő zónában — egy eltérő lefutású, balracsavarodó hullámrendszer is fellép. A részletes elemzés azt mutatja, hogy ebben az elülső körzetben a csillók már a testen jobbra hátra, tehát a normális előre-csúszásnak megfelelő aktív csapásiránnyal működnek. A mellső testvég körüli csillózat tehát egy idő múlva egyrészt egyre inkább fékezi a hátráló mozgást, másrészt ugyanakkor az állat eredeti tengelytartását is megzavarja, amennyiben a mellső testvéget fokozatosan nagyobb átmérőjű tölcésező mozgásra kényszeríti. Nem az összcsillózat lokomotorikus effektusának fokozatos gyengülése, hanem a normális csillótevékenységnek a mellső testvégen való korai megindulása a magyarázata tehát annak, hogy a hátrálás a gyors és sima kezdeti szakasz után fokozatosan lelassul és csavarmentessé válik.

Anélkül, hogy a további részletekre kitérnénk, ez alkalommal csupán néhány, a képek tanulmányozásából adódó szempontra szeretnénk rámutatni, amelyek a jelek szerint a kálium-reverzión fiziológiai mechanizmusát új megvilágításba helyezik:

1. A csillók tevékenysége a reverzió folyamán is metachronikusan koordinált, bár a csillóhullámok lefutása s ezeken belül az egyes csillók csapásmódja jellegzetesen más, mint a normális helyváltoztatásmód közben. Nyilvánvaló tehát, hogy az a szakirodalomban egészen a legutóbbi időkig ismételtentlatolgatott felfogás, amely szerint közvetlenül a mozgásszervecskékre kifejtett hatásról van szó, nem állhatja meg a helyét. A felvételek világosan igazolják, hogy a kálium hatása a csillókra mint effektorokra, közvetve, a sejttest normális regulációs tevékenységének befolyásolásával, nevezetesen a mozgást primáreusan koordináló ingerületimpulzusok módosítása révén érvényesül.

2. A mozgásreakciók régóta begyökeresedett elnevezése, tehát a reverzió, voltaképpen helytelen és félrevezető. Szó sincs a csillók csapásirányának 180 fokos átváltásáról, hanem csupán a csapássík alig 30 fokos elfordulása következik be, s ez elegendő ahhoz, hogy a véglénytest előretartó mozgása hátrálásba csapjon át.

3. A csilló saját spontán mozgására vonatkozó korábbi vizsgálatokból [11], továbbá a mostani megfigyelésekből kézenfekvőnek látszik egy másik sokat vitatott kérdésnek, a csilló csapásirány átváltásának elvi megoldása is: a reverzióra jellemző ingerülethullámok a spontán balraköröző csillót nem — mint ahogy a normális helyzetváltoztatás közben láttuk — balra előrefelé, hanem valamivel később a már balra és kissé hátrafelé dőlő helyzetben érik, s ebből a mozgáshelyzetből késztetik aktív kicsapásra.

8. és 9. ábra. A reverzió során teljes lendülettel hátráló állatok csillóbundája. 10—13. ábra. A csillóműködés normalizálódásának egymásutáni fázisai. Osmium-haematoxylines gyors-rögzítés, 380×

4. Az irodalomban reverziónak minősített folyamatból voltaképpen csupán annak egy rövid kezdeti szakasza tekinthető a kálium-ion hatására fellépő tisztá mozgásválasznak. Röviddel a hátrálás megindulása után ugyanis

Paramecium mellső végén ilyenkor is egy sajátos, az általános sejtélettan szempontjából is figyelemre méltó „visszaszabályozó” folyamat indul meg [12], amely igyekszik a véglénytest csillótevékenységét a fiziológiai egyensúly-állapotba visszavezetni. Ennek eredményeként egy-két másodperccel a reakció megindulása után a mellső testvég körül a csillók már a normális irányban, tehát kaudálisan csapkodnak. Így a sejt testfelszíne a hátrálás nagyobbik részében két, a funkció tekintetében egymástól élesen elhatárolódó ellentétes irányban sodró csillókörszetre különül. Amilyen mértékben túlsúlyra jut a mellső testvégi csillózat normális lokomotorikus effektusa a hátrálás hullám-rendszere fölé, abban a mértékben lassul le, ill. szűnik meg a *Paramecium* hátráló mozgása, majd pedig fokozatosan növekedő sebességgel az előretartó mozgásra vált át. Korábbi vizsgálatokból [12] tudjuk, hogy ez a polárisan meginduló szukcesszív átváltási folyamat természetes körülmények között rendkívül gyorsan, a másodperc törtrészei alatt zajlik le; kálium-oldatban azonban több percig is kihúzódhat s ennek megfelelően többszörösére elnyúlik a hátrálás időtartama is. Belőle az élő állatok megfigyelése közben természetesen semmit sem látni, pedig ismerete jelentős lehet a reverzióval kapcsolatos ingerfiziológiai kísérletek helyes értékelése szempontjából. Számos tanulmány közöl ugyanis olyan adatokat, amelyek szerint a legkülönbözőbb hatóanyagok a hátráló mozgás időtartamát befolyásolják. Márpedig a következtetések levonásakor nyilván nem közömbös, hogy adott esetben valóban az össz-csillózat reverziójának időtartama változott-e meg, avagy pedig csupán az eredeti hullámrendszerre való visszatérés tempója módosul.

Összefoglalás

Szerzők a kálium-reverzió fiziológiai mechanizmusának közelebbi megismerése érdekében egymással párhuzamosan két módszert vezettek be. Egyrészt készüléket állítottak össze, amelynek segítségével a sötétlátótérben oldalról megvilágított véglénytest (*Paramecium multimicronucleatum*) elmozdulása a fényérzékeny lemezen leképezhető. Másrészt az osmium-haematoxylines gyorsrögzítőeljárás segítségével sikerült az állatok csillózatát a hátrálás különböző stádiumaira jellemző pillanatnyi mozgásállapotukban megdermeszteni, s így módon a csillóbunda tevékenységét az egész reakció folyamán lépésről lépésre rekonstruálni.

A kapott képek elemzése alapján megállapítható, hogy 1. a kálium hatása a csillókra közvetve, a mozgást primáreusan koordináló ingerület-impulzusok módosulása révén érvényesül; 2. a reverzió folyamán a normális

mozgáshoz képest a csapássíknak csupán kb. 30 fokos elfordulása következik be; 3. az irodalomban reverziónak minősített folyamatból voltaképpen csupán annak egy viszonylag rövid kezdeti szakasza tekinthető a kálium által indukált tiszta mozgásválasznak. Röviddel a hátrálás megindulása után ugyanis a *Paramecium* mellső végén megindul egy sajátos „visszaszabályozó” folyamat, amely igyekszik a véglénytest csillótevékenységét a normális előre-úszásnak megfelelő fiziológiai egyensúlyállapotba visszavezetni.

IRODALOM

1. FERGUSON, M. L. (1957): Photographic technique for quantitative physiological studies of *Paramecia* and other motile cells. *Physiol. Zool.*, **30**, 208—215.
2. KAMADA, T. (1938): Intracellular calcium and ciliary reversal in *Paramecium*. *Proc. Imp. Acad. Japan.*, **14**, 260—262.
3. KAMADA, T. (1940): Ciliary reversal of *Paramecium*. *Proc. Imp. Acad. Japan.*, **16**, 241—247.
4. KAMADA, T., KINOSITA, H. (1940): Calcium-potassium factor in ciliary reversal of *Paramecium*. *Proc. Imp. Acad. Japan.*, **16**, 125—130.
5. KINOSITA, H. (1954): Electric potentials and ciliary response in *Opalina*. *J. Fac. Sci., Univ. Tokyo*, **7**, 1—14.
6. КОКИНА, Н. Н. (1957): Зависимость калийной реверсии парамеций от обмена веществ. *Сборн. научн. студенч. работ. Биол.-почв. фак. Мозк. Гос. Унмз.*, 87—91.
7. LENGEROVÁ, A. (1955): Метод оценки результатов воздействия ионизирующего облучения на микроорганизмы. *Fol. Biol., Praha*, **1**, 54—61.
8. MAST, S. O., NADLER, J. E. (1926): Reversal of ciliary action in *Paramecium caudatum*. *J. Morphol. Physiol.*, **43**, 105—117.
9. OKAJIMA, A. (1953): Studies on the metachronal wave in *Opalina*. I. Electrical stimulation with the micro-electrode. *Japan. J. Zool.*, **11**, 87—100.
10. PÁRDU CZ, B. (1952): Új gyorsfestő eljárás a véglénykutatás és oktatás szolgálatában. *Ann. Hist.-nat. Mus. Nat. Hung.*, **2**, 5—12.
11. PÁRDU CZ, B. (1954): Reizphysiologische Untersuchungen an Ziliaten. II. Neuere Beiträge zum Bewegungs- und Korrelationsmechanismus der Ziliaten. *Acta Biol. Hung.*, **5**, 169—212.
12. PÁRDU CZ, B. (1956): Reizphysiologische Untersuchungen an Ziliaten. V. Zum physiologischen Mechanismus der sog. Fluchtreaktion und der Raumorientierung. *Acta Biol. Hung.*, **7**, 73—99.
13. PÁRDU CZ, B. (1958): Reizphysiologische Untersuchungen an Ziliaten. VII. Das Problem der vorbestimmten Leitungsbahnen. *Acta Biol. Hung.*, **8**, 220—251.
14. WINGO, W. J., BROWNING, I. (1951): Measurement of swimming speed of *Tetrahymena geleii* by stroboscopic photomicrography. *J. Exp. Zool.*, **117**, 441—449.