

Lektyny i ich rola w organizmie

JERZY TRUCHLIŃSKI, RENATA STARCZYŃSKA

Zakład Biochemii i Toksykologii Instytutu Żywności Zwierząt, Wydział Biologii i Hodowli Zwierząt AR,
ul. Akademicka 13, 20-934 Lublin

Truchliński J., Starczyńska R.

Lectins (hemagglutinins) and their role in the organisms

Summary

Lectins (hemagglutinins, phytolectins) are glycoproteins causing the agglutination of erythrocytes due to their bonding to N-acetyl- β -D-galactosamine moieties of cellular membranes. About 1000 lectins of various structures consisting of 2 or 4 sugar-protein fragments have been recognised so far. They occur on the surface of flower leaves (about 800 species), bacteria, fungi, algae, lower and higher animals as well as body fluids. Lectins act as mitogens of lymphocytes T and B in humans and animals. They also cause cancer cell agglutination. They damage enterocytes of the duodenum and caecum epithelium, lower the activity of proteolytic enzymes and cause morphological changes in the kidney and liver. Due to their toxicity for animals and humans, they are considered to be anti-nutritive factors (ANF). They play a positive role for plants – sugar storage and protective functions against bacteria and viruses. The role of lectins in apoptosis is currently stressed.

Keywords: lectins, agglutination, mitogens.

Lektyny (ang. lectins), określane także jako hemaglutyniny, fitohemaglutyniny, fitoaglutyniny oraz fazyliny są glikoproteidami reagującymi z błonami komórkowymi, które są zbudowane z charakterystycznych kompleksów cukrowych, do których wykazują powinowactwo (8, 9, 12, 20). Niektóre lektyny powodują aglutynację czerwonych ciałek krwi ludzi i zwierząt (6, 8, 11, 12, 20, 23), liczne działają jako mitogeny stymulujące transformację blastyczną limfocytów. Lektyny w formie rozpuszczalnej są silnym mitogenem dla limfocytów T człowieka i myszy. Mogą one również działać jako mitogeny (czynniki indukujące mitozę komórki) dla limfocytów B pod warunkiem, że zostaną im zaprezentowane na nierozpuszczalnej matrycy. Lektyna z ziarna pszenicy (*Triticum vulgare*) – tzw. WGA (ang. wheat germ agglutinin) aglutynuje transformowane komórki nowotworowe (20). Hemaglutyniny występują obficie na powierzchni komórek roślin kwiatowych, bakterii, grzybów, glonów, niższych i wyższych zwierząt oraz w płynach ustrojowych żywych organizmów. Odgrywają one rolę substancji przekaźnikowych w procesach komunikacji międzykomórkowej, tj. w rozpoznawaniu i dopasowywaniu się wzajemnie komórek na zasadzie zamek – klucz, mogą też wywoływać wewnątrzkomórkowe reakcje (9). W roślinach hemaglutyniny pełnią niezwykle ważną rolę, stanowiąc swoistą formę magazynowania cukrów oraz spełniają funkcje ochronne w nasionach (12).

Aktywność hemaglutyninową wykazują ekstrakty uzyskane z około 800 gatunków roślin. Z tej liczby, mimo licznych badań, udało się dotychczas wyizolować i oczyścić tylko kilkadziesiąt (6). Fitohemaglutyniny wywołują aglutynację niektórych erytrocytów dzięki wiązaniu się z resztami N-acetylo- β -D-galaktozaminami. Badania nad aktywnością hemaglutynin sięgają jeszcze końca XIX wieku. Z soi po raz pierwszy wyizolował je Liener w 1952 r. Z czasem okazało się, że istnieje nie jedna, a kilka hemaglutynin sojowych (6).

Lektyny występują głównie w roślinach strączkowych, ale ich obecność stwierdza się także w ziarnie zbóż. Między innymi wyizolowano je z zarodka pszenicy oraz mąki pszennej (21). Udział tych związków w roślinach strączkowych może dochodzić nawet do 10% (10, 19). Surowa mąka sojowa zawiera około 3% hemaglutynin (6).

Występowanie tego typu związków stwierdzono u kilkuset roślin, jednak w czystej postaci wyizolowano i opisano ich dotychczas kilkadziesiąt. Lektyny występują najprawdopodobniej we wszystkich strączkowych, a ich obecność stwierdzono w bobiku, soczewicy, soi i grochu (12, 17, 18) oraz śladowe ilości w łubinie (17). Zawartość hemaglutynin w nasionach bobiku i grochu jest znacznie niższa niż w soi i fasoli (18).

Jak dotąd znanych jest ponad 1000 lektyn (9). Ich budowa jest różna, zazwyczaj złożona jest z 2 lub 4

Tab. 1. Właściwości niektórych lektyn (wg 20)

Pochodzenie i właściwości	Lektyna				
	Con A	Aglutynina sojowa	Ziarno pszenicy	Ślimak winniczek	Lentil
Pochodzenie	Jasiek (<i>Canavalia ensiformis</i>)	Soja (<i>Glycine maxima</i>)	Ziarno pszenicy (<i>Triticum vulgare</i>)	Ślimak winniczek (<i>Helix pomatia</i>)	Soczewica (<i>Lens culinaris</i>)
Właściwości					
- swoisty cukier	Glc/Man	GalNAc	GlcNAc	GalNAc	Glc/Man
- glikoproteina	-	+	-	+	(+)
- aktywność mitogenna dla limfocytów	+	forma polimeryczna	-	-	+
- masa cząsteczkowa	51 000 (dimer)	120 000	36 000	79 000	52 000
- jony metali	Ca ⁺² , Mn ⁺²	Ca ⁺² , Mn ⁺²	-	-	Ca ⁺² , Mn ⁺²

Objaśnienia: GalNAc – N-acetylogalaktozamina, Glc – glukoza, Man – mannoza, GlcNAc – N-acetyloglukozoamina.

Tab. 2. Fitohemaglutyniny anti-A oraz anti-H (wg 20)

Pochodzenie	Hemaglutynina	
	anti-A	anti-H
<i>Vicia villosa</i> (Wyka kosmata)	+	-
<i>Lathyrus pratensis</i> (Groszek żółty)	+	-
<i>Phaseolus lunatus</i> (Fasola półksiężycowata)	+	-
<i>Laburnum alpinum</i> (Złotokap Alpejski)	-	+
<i>Lotus tetragonolobus</i> (Komonica)	-	+
<i>Cytisus purpureus</i> (Szcodrzeniec purpurowy)	-	+
<i>Genista sagittalis</i> (Janowiec skrzydlaty)	-	+
<i>Ulex europaeus</i> (Kolcolist zachodni)	-	+
<i>Ononis spinosa</i> (Wilżyna ciernista)	-	+

cukrowo-białkowych fragmentów, tj. diametryczna lub tetrametryczna (3, 9), często z udziałem jonów metali: manganu, wapnia (tab. 1), rzadziej cynku, magnezu. Ma to szczególne znaczenie w procesie wiązania cukrów (9). Ciężar cząsteczkowy lektyn (tab. 1) waha się od 12 000 do 120 000 (1, 8, 20). Wszystkie dotychczas wyizolowane lektyny są glikoproteidami, których część cukrowa (tab. 1) zbudowana jest najczęściej z cząstek mannozy i glukozaminy (6, 10). Jedynym wyjątkiem wśród kilkudziesięciu oczyszczonych dotychczas lektyn jest konkanawalina A uzyskana z kankawalii mieczokształtnej, w której nie stwierdzono cukrów (6).

Działanie i właściwości lektyn

Wpływ na ludzi i zwierzęta wyraża się:

a) aglutynacją erytrocytów:

– swoistością wobec krwi różnych gatunków zwierząt (15, 16) – np. lektyny fasoli wykazują bardzo silne działanie wobec krwi owcy, podczas gdy lektyny grochu nie wykazują takiego działania (6); hemaglu-

tyny bobiku nie działają na kurczęta, ale powodują aglutynację erytrocytów indyków, myszy, szczurów i królików (12, 19), lektyna sojowa prowadzi do aglutynacji czerwonych krwinek królików, a jednocześnie nie uszkadza erytrocytów koni (4),

– wysoką swoistością większości lektyn wobec substancji grupowych (tab. 2) krwi ludzkiej (np. lektyny fasoli limeńskiej są specyficzne tylko wobec receptorów grupy A),

– istnieniem lektyn pozbawionych swoistości grupowej (np. lektyny soi – *Glycine maxima*, czy bobu – *Vicia faba*),

b) aglutynacją komórek nowotworowych,

c) możliwością zmian w limfocytach – np. fitohe-
maglutynina z kolcolistu zachodniego (*Ulex europaeus*) (6, 20),

d) niszczeniem enterocytów nabłonka dwunastnicy i jelita czczego (11, 19),

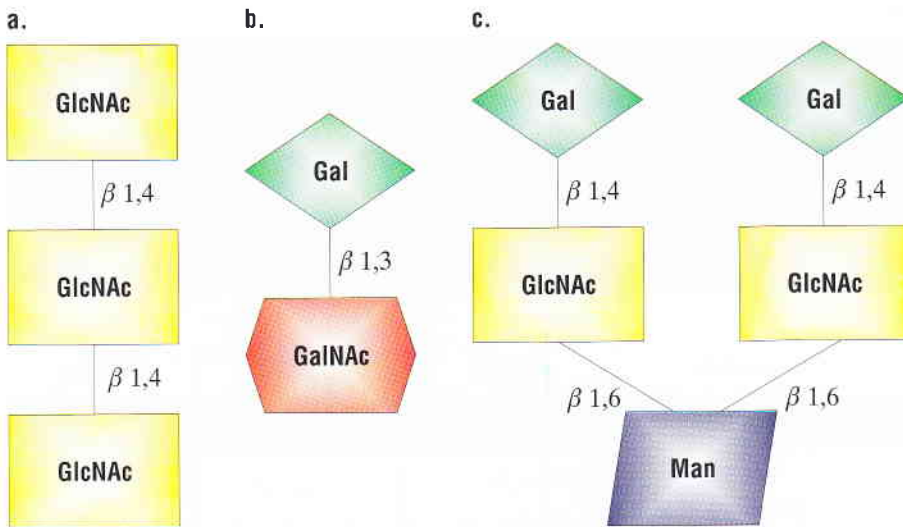
e) obniżeniem aktywności enzymów proteolitycznych,

f) zmianami morfologicznymi w nerkach i wątrobie (19),

g) toksycznością dla zwierząt (np. toksyczność lektyny soi LD₅₀ wynosi 50 mg/kg masy szczura, a lektyny grochu LD₅₀ – 140 mg/kg).

W odniesieniu do roślin lektyny są formą magazynowania cukrów w nasionach (przez swoiste wiązanie cukrów), pełnią funkcję ochronną w nasionach (zdolność zlepiania bakterii i wirusów) oraz odgrywają istotną rolę w mechanizmie symbiozy korzeni roślin motylkowych z bakteriami *Rhizobium* (swoistość dla danego szczepu bakterii np. lektyny soi – *Rhizobium japonicum*, lektyny grochu i bobiku – *Rhizobium leguminosarium*, lektyny fasoli – *Rhizobium phaseoli*) (6).

Lektyny są substancjami termolabilnymi. Niektórzy autorzy (6) uważają jednak, że dopiero autoklawowa-



Ryc. 1. Jednostki cukrowe rozpoznawane przez aglutyninę zarodków pszenicy (a), lektynę z orzechów ziemnych (b) oraz fitohemaglutyninę (c) (wg 22)

Objaśnienia: Gal – galaktoza, pozostałe oznaczenia jak w tab. 1.

nie nasion roślin strączkowych doprowadza do degradacji tych związków. Podkreśla się, że np. fasola niedogotowana lub też niedostatecznie ogrzewana mączka fasolowa stosowana do wzbogacania żywności mogą wywołać objawy toksyczności u ludzi. Stwierdza się jednak także, że lektyny są łatwo trawione przez pepsynę i prawdopodobnie nie przechodzą w pierwotnej formie przez żołądek. Podczas dojrzewania nasion (23) aktywność lektyn obniża się, aż do zupełnego zaniku w dojrzałych, suchych nasionach (aktywność hemaglutynacyjna lektyn zanika, wtedy gdy zawartość wody w nasionach spadnie o 88,5%).

Istnieją pewne dowody, że hemaglutyniny mogą wywierać ujemny wpływ na wyniki produkcyjne zwierząt. Badania na kurczętach wskazują jednak, że pomiędzy aktywnością hemaglutynin bobiku a wynikami produkcyjnymi nie ma bezpośredniego związku. Stosując groch lub soczewicę nie stwierdzono toksycznego efektu zawartych w nich hemaglutynin, ale oczyszczone hemaglutyniny, pochodzące z tych nasion wpływały niekorzystnie na wzrost i zmniejszały aktywność enzymów proteolitycznych oraz aktywność jelitowych disacharydaz i fosfataz u szczurów (*in vitro*), a ponadto wiązały się z epitelialnymi komórkami wyściełającymi jelito cienkie, prowadząc do znacznego osłabienia wzrostu i ostatecznie do śmierci (12).

Lektyny są białkami wiążącymi cukry (łac. *legere* oznacza wybierać) (19, 22). Na przykład konkanawalina A (z fasoli Jaś) wiąże się z wewnętrznymi i redukującymi końcami reszt α -mannozy. Aglutynina z zarodków pszenicy, lektyna z orzechów ziemnych i fitohemaglutynina (z czerwonej fasoli) rozpoznają jednostki disacharydowe bądź oligosacharydowe (ryc. 1) (22).

Wszystkie znane lektyny zawierają dwa lub więcej miejsc wiążących jednostki cukrowe, co tłumaczy ich zdolność do aglutynowania (sieciowania) erytrocytów i innych komórek. Ze względu na zdolność rozpoznawania specyficznych wzorów oligosacharydowych

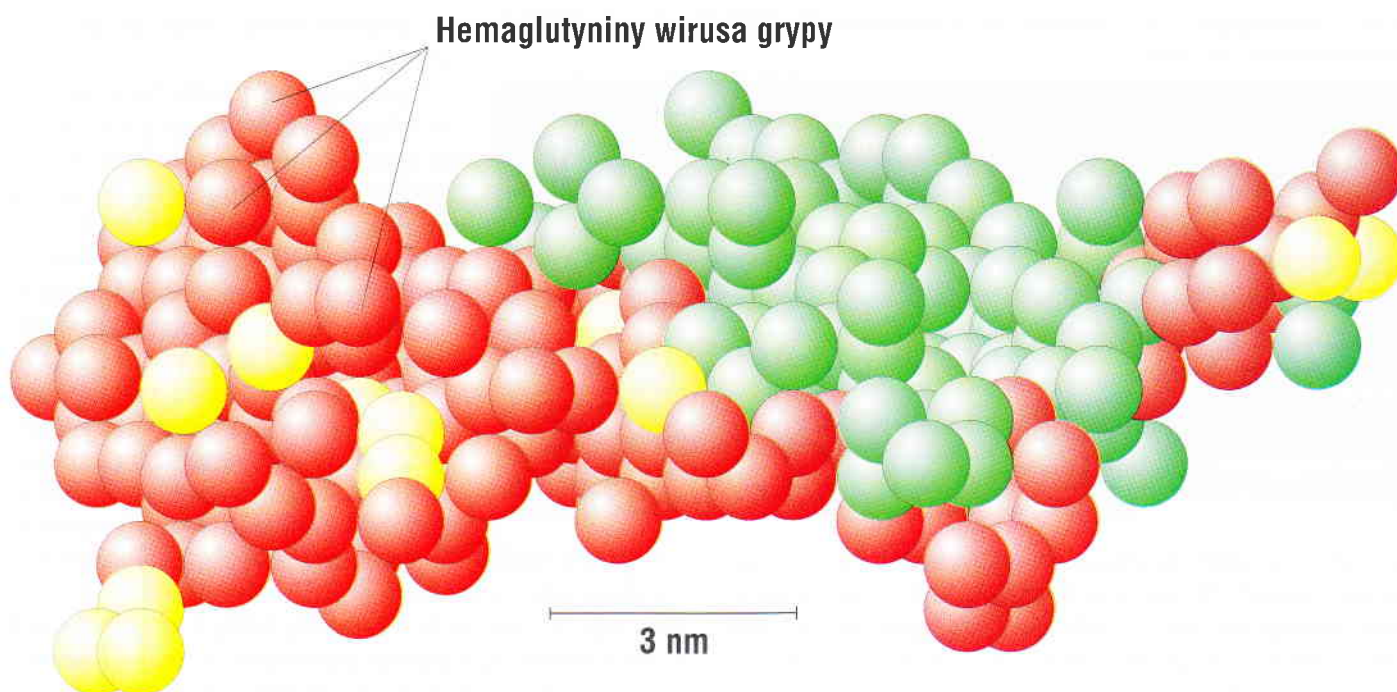
lektyny są bardzo użytecznymi związkami sondującymi powierzchnie komórkowe. Niektóre z nich biorą udział w wiązaniu bakterii asymilujących azot (np. *Rhizobium trifolii*) do powierzchni włóśników korzeniowych roślin motylkowych. W tym przypadku lektyna sieciuje receptory ze ściany komórkowej włóśników korzenia z polisacharydami i lipopolisacharydami otoczki właściwej u bakterii. Bakterie również zawierają lektyny. Przyczepianie się bakterii *Escherichia coli* do komórek nabłonka żołądkowo-jelitowego odcinka przewodu pokarmowego odbywa się za pośrednictwem bakteryjnych lektyn, które rozpoznają jednostki oligosacharydowe na powierzchni komórek docelowych.

Lektyny te są umiejscowione na powierzchni cienkich, podobnych do włosków wyrostków zwanych fimbriami (pilami). Bakterie *Neisseria gonorrhoeae* atakują komórki nabłonka ludzkich narządów rodnych oraz jamy ustnej. Pozostałe tkanki ludzkie oraz komórki innych gatunków nie są narażone na infekcję, gdyż na ich powierzchni nie występują cukrowce rozpoznawane przez ten czynnik chorobotwórczy. Również pewne wirusy przedostają się do wnętrza komórek gospodarza poprzez przywieranie do cukrowców występujących na powierzchni tych komórek. Na przykład wirus grypy (ryc. 2) zawiera hemaglutyninę o masie cząsteczkowej 150 000, która rozpoznaje reszty kwasów sialowych na powierzchni komórek wyściełających układ oddechowy. Posiada ona około dwóch tysięcy determinantów antygenowych na wirion (22).

Każda komórka ma na swojej powierzchni tzw. wzór cukrowy stanowiący pewną formę receptora cukrowego umożliwiającego łączenie się poprzez lektyny, z podobnymi komórkami. Proces taki może odbywać się też na odległość poprzez płyny ustrojowe. O funkcji lektyn decyduje nie tylko skład cukrowy powierzchni komórek. Ważna jest również stereochemia usytuowania aminokwasów, co w sumie tworzy układ recepturowy określany jako „binding site”.

Aktywność biologiczna lektyn polega na swoistym wiązaniu się odpowiednich receptorów cukrowych błon komórkowych z cząsteczkami lektyny. Aktywność tę można skutecznie zahamować przez reakcję z odpowiednimi cukrami prostymi lub innymi substancjami mającymi komponent cukrowy. Opisane procesy dotyczą oczywiście także komórek nowotworowych. Komórki te wytwarzają na powierzchni często inne lektyny niż komórki normalne. Wykazano to m.in. na komórkach nowotworowych neuronalnych i nerwowych.

Oderwane komórki nowotworowe przemieszczają się w organizmie dotąd, aż napotkają odpowiednie lek-



Ryc. 2. Hemaglutyniny wirusa grypy (wg 22)

Tab. 3. Lektyny stosowane w badaniach grupowych erytrocytów (wg 20)

Lektyna	Swoistość	Zastosowanie
<i>Dolichos biflorus</i> (Kankawalia dwukwiatowa)	Anty-A ₁	Identyfikacja krwinek A ₁ ; oddzielanie krwinek A ₁ od innych krwinek, badania poliaglutynacji erytrocytów
<i>Ulex europaeus</i> (Kolcolist zachodni)	Anty-H	Wykrywanie wydzielnicy grupy 0
<i>Arachis hypogaea</i> (Orzech ziemny)	Anty-T	Identyfikacja krwinek T i T _k
<i>Salvia sclarea</i> (Szałwia muszkatołowa)	Anty-T _n	Identyfikacja krwinek T _n

tyny powierzchniowe jako receptory i mogą wtedy połączyć się – prowadzi to do tworzenia odległych nieraz przerzutów (metafaz). Jeżeli nie napotkają odpowiedniego receptora przepływają obok i przerzuty nie tworzą się. Obecnie znane są metody biochemiczne umożliwiające śledzenie tych procesów, co daje możliwość różnicowania nowotworów. Jemioła zawiera lektyny, które są potencjalnymi inhibitorami tworzenia się przerzutów. Jedną z nich – lektyna MLI została dokładnie zbadana. Okazało się, że jest ona wybitnie aktywną substancją wpływającą na układ immunologiczny i to już w minimalnych dawkach 1-5 ng/kg wagi ciała. Powoduje ona – przy podaniu podskórnym lub dożylnym – silną immunostymulację, uwolnienie cytokin i zwiększenie wytwarzania komórek niszczących komórki nowotworowe (zawierające wiązanie β -galaktozydowe), tzw. czynnika TFN powodującego nekrozę tych komórek i inne odczyny immunologiczne, które mogą być znaczące w początkowych okresach powstawania procesu nowotworowego. Należy jednak pamiętać, że dawki lektyny MLI powyżej 50 ng/kg są toksyczne (9).

Tab. 4. Lektyny jako mitogeny limfocytów (wg 7)

Mitogen	Limfocyty	
	T	B
Konkanawalina A (Con A)	+	-
Fitohematoglutynina (PHA)	+	-
Mitogen szkarłatki (PWM)	+	+
Liposacharyd (LPS)	+	+

Stwierdzono, że mitogenami limfocytów (tab. 4) są niektóre lektyny roślinne, np. fitohemaglutynina (PHA), konkanawalina A (Con A), mitogen szkarłatki (PWM), a także pochodzenia bakteryjnego, np. liposacharyd (LPS) z bakterii gramujemnych. Pobudzenie limfocytów T przez mitogeny wzmagają na ogół tzw. komórki dodatkowe (accessory cells). Komórki te zawierają zwykle cząsteczki MHC klasy II, które być może prezentują w jakiś sposób mitogeny limfo-

Tab. 5. Porównanie cech cytotoksycznych limfocytów T z TCR i limfocytów TCR $\gamma\delta$ oraz komórek NK (wg 7)

Cecha	Komórki NK	Limfocyty T	
		$\gamma\delta$	$\alpha\beta$
Fenotyp (CD)	CD2 ⁺ 3 ⁻ 4 ⁻ 8 ⁻	CD2 ⁺ 3 ⁺ 4 ⁻ 8 ⁻	CD2 ⁺ 3 ⁺ 4 ⁺ 8 ⁺
TCR	-	+($\gamma\delta\eta\gamma$)	+($\alpha\beta$)
Wachlarz rozpoznawanych komórek docelowych	szeroki	szeroki	ograniczony
Odpowiedź na PHA i Con A	-	+	+
Restrykcja MHC	-	-	+

cytom T, a także dostarczają im zarazem inne dodatkowe sygnały. Wykazano również, że α_2 -makroglobulina hamuje np. odpowiedź proliferacyjną limfocytów na czynniki mitogenne, takie jak fitohemaglutynina.

Nie wszystkie jednak lektyny są mitogenami zarówno limfocytów T, jak i B (tab. 4). Fitohemaglutynina PHA i konkanawalina A stosowane są też do oceny i scharakteryzowania niektórych cech limfocytów T z receptorami TCR $\alpha\beta$. Znaczna ich część, podobna do komórek NK przejawia zdolność do spontanicznej, nie podlegającej MHC restrykcji cytotoksyczności komórkowej, zależnej od przeciwciał. Wydają się one stanowić populację limfocytów o cechach pośrednich między limfocytami T i komórkami NK (natural killers cells). Naskórkowe limfocyty T $\gamma\delta$ rozpoznają przede wszystkim białka szoku termicznego, głównie hsp-65 (heat shock protein). Porównanie niektórych cech cytotoksycznych limfocytów T z TCR i limfocytów TCR $\gamma\delta$ oraz komórek NK, w tym odpowiedzi na działanie fitohemaglutyniny (PHA) i konkanawaliny A (Con A) przedstawiono w tab. 5.

Nie zostało dotychczas jednoznacznie wyjaśnione, czy limfocyty T $\gamma\delta$ spełniają pożyteczną rolę i biorą głównie udział w odporności przeciwzakaźnej, a także w eliminowaniu komórek własnych, poddanych stresom i uszkodzeniom, czy w chorobach autoimmunologicznych (7).

Część lektyn (np. fitohemaglutynina, czy konkanawalina A) należy do związków immunopotencjalizujących, tzn. takich, których działanie powoduje wzmoczenie odpowiedzi immunologicznej. Wyraża się to zwiększeniem wartości wskaźnika określającego odpowiedź lub też zwiększeniem czasu otrzymania tej odpowiedzi.

Adiuwanty wzmacniające odpowiedź immunologiczną, do których obok wymienionych lektyn należą interleukiny (II-1, II-2 i II-3), czynnik aktywujący makrofagi, interferony, adiuwant Freund'a, alginat wapnia, glin, wodorotlenek glinu i inne, działają poprzez następujące mechanizmy:

– podniesienie sprawności procesu przetwarzania antygeny przez makrofag,

– przedłużenie czasu ekspozycji antygeny,

– pobudzenie proliferacji aktywnych limfocytów poprzez zwiększenie syntezy i uwalniania limfokina.

Substancje mitogenne, takie jak endotoksyna i niektóre lektyny pochodzenia roślinnego (np. fitohemaglutynina (PHA) wywołują immunostymulujący wpływ poprzez podniesienie ekspansji komórek B i T (5).

Lektyny jako białka wiążące sacharydy na drodze nieenzymatycznej, oprócz zdolności aglutynowania komórek i pobudzania limfocytów, znalazły zastosowanie w umiejscawia-

niu poszczególnych grup cukrowych w błonach komórkowych, na powierzchni błon śluzowych, gruczołów, itp. W tym celu używa się lektyn znakowanych fluorochromem, rzadziej enzymem; w reakcji bezpośredniej lub też kanapkowej stosując kolejno lektynę i znakowane przeciwciała przeciw danej lektynie. Do najczęściej stosowanych znakowanych lektyn należą: konkanawalina A (Con A), lektyna z kielków pszenicy (WGA), lektyna z orzeszków ziemnych (PNA) oraz lektyny ze ślimaczka winniczka (HP) (14).

Na zakończenie warto dodać, że właściwości aglutynacyjne lektyn są wykorzystywane przez człowieka, a mianowicie hemaglutyniny mają zastosowanie w badaniach grupowych erytrocytów krwi ludzkiej (20) (tab. 3). Również, ze względu na charakter białkowy tych związków, nie istnieją trudności z wyeliminowaniem ich z pożywienia, czy też paszy, ponieważ jak już wspomniano lektyny są wrażliwe na działanie wysokiej temperatury (2, 11, 13).

Piśmiennictwo

- Allen A. K.: Biochim. Biophys. Acta. (1), 129, 1995.
- Grochowicz J.: Pasze Przem. 6, 32, 1997.
- Hamelryck T., Minh H., Poortmans F., Chrispeels M., Wyns L., Loris R.: J. Biol. Chem. 271, 34, 1996.
- Huisman J.: World's Poultry Sci. Ass. 373, 42, 1992.
- Hyde R. M.: Immunologia. Urban i Partner Wyd. Medyczne, Wrocław 1997.
- Jacóczyński B.: Przemysł Spoż. 42, 251, 1988.
- Jakóbiński M. i wsp.: Immunologia. PWN, Warszawa 1993.
- Kawagishi H., Mitsunaga S., Yamawaki M., Ido M., Shimada A., Kinoshita T., Murata T., Usui T., Kimura A., Chiba S.: Phytochemistry. 44, 1, 1997.
- Kohlmünzer S.: Wiad. Ziel. (4), 16, 1993.
- Lampart-Szczapa E.: Zesz. Probl. Post. Nauk Roln. 446, 61, 1997.
- Liener I., Sharon N., Goldstein I. J.: The Lectins. Academic Press, New York, 1986, s. 527-552.
- Lipiec A., Pisarski R. K.: Medycyna Wet. 50, 4, 1994.
- Lipiński K.: Trzody chlewna 7, 19, 1995.
- Mackiewicz S.: Immunologia. PZWL, Warszawa 1991.
- Marquardt R. R., McKirdy J. A., Ward T., Campbell L. D.: Canad. J. Anim. Sci. 55, 421, 1975.
- Newton S. D., Hill G. D.: Nutrition Abstr. Seria B 53, 99, 1983.
- Niedźwiadek T.: Trzoda chlewna 4, 8, 1986.
- Pastuszevska B.: Przegl. hod. 49, 43, 1982.
- Skomial J.: Drobniarstwo (1), 11, 1996.
- Słopek S.: Ilustrowany słownik immunologiczny. PZWL, Warszawa 1983.
- Sokol J. L.: Post. Nauk Roln. 42/47, 98, 1995.
- Stryer L.: Biochemia PWN, Warszawa 1997.
- Supida R., Chatterjee B. P., Ray S.: Phytochemistry 40, 643, 1995.

Adres autora: dr hab. Jerzy Truchliński prof. AR, ul. Akademicka 13, 20-934 Lublin