

## AZ ELEKTROGÉN $\text{Na}^+$ -PUMPA SZEREPE AZ ADRENALIN ELEKTROFIZIOLÓGIAI HATÁSAIBAN TENGERIMALAC TAENIA COLI SIMAIZMON

TÖRÖK TAMÁS\*, VIZI E. SZILVESZTER\*\*, az orvostudományok doktora,  
MAGYAR KÁLMÁN\*, az orvostudományok doktora és  
KNOLL JÓZSEF\*\*, az MTA rendes tagja

Közlésre érkezett: 1981. IV. 6.

A katecholaminok hatásai  $\alpha$  és  $\beta$  receptorokon keresztül valósulnak meg (Ahlquist, 1948). Ezek a hatások a legtöbb sima-izmon ellentétesek. Az  $\alpha$  hatás általában kontrakciót, a  $\beta$  hatás pedig relaxációt eredményez (Bülbring és Kuriyama, 1973). A gastrointesztinális traktus sima-izomzatán azonban mindkét hatás relaxációt okoz. A katecholaminok egyik legekleatásabb képviselőjének, az adrenalinnek elektrofiziológiai hatásai tengerimalac taenia coli simaizmon (hiperpolarizáció, tüske aktivitás gátlás, relaxáció) ugyancsak  $\alpha$  és  $\beta$  preceptorokon keresztül jönnek létre (Bülbring és Tomita, 1969a, b; 1977a, b; Török és mtsai, 1977). Phentolamin ( $\alpha$ -blokkoló) jelenlétében a hiperpolarizáció elmarad, a tüske aktivitás gátlása viszont létrejön ( $\beta$ -hatás). Az  $\alpha$ -hatás külső  $\text{Ca}^{++}$ -függő (Bülbring és Tomita, 1969c; 1977b; Török és mtsai, 1977).

Elsőként Born és Bülbring (1956) vetik fel, hogy az  $\alpha$ -hatás kapcsolatos a Na-pumpa aktiválásával, ugyanis kísérleteikben az adrenalin fokozta a rádióaktív jelzett  $\text{K}^+$  belépését. Axelsson és mtsai (1961) kimutatták, hogy az adrenalin hatására a  $\text{Na}^+$ -kiáramlás (efflux) nő, a  $\text{Na}^+$ -belépés (influx) pedig csökken. Bülbring és mtsai (1966) megerősítették Axelsson és mtsai eredményét, kísérleteikben ugyanis az adrenalin fokozta a  $^{24}\text{Na}$ -effluxot. Az  $\alpha$ -hatást később Bülbring és iskolája (Bülbring és Tomita, 1969b, c; 1977b), valamint Shuba (1961) a  $\text{K}^+$  és részben a  $\text{Cl}^-$  vezetőképesség növekedésével magyarázták.

Kísérleteinkben az adrenalin posztszinaptikus  $\alpha$ -receptort (ún.  $\alpha_1$ -receptor: Starke és mtsai, 1974, 1975) izgató hatását tanulmányoztuk az elektrogén  $\text{Na}^+$ -pumpa gátlása és reaktiválása során.

### Vizsgálati módszerek

Kísérleteinkhez mindkét nemű tengerimalacot (350—500 g) használtunk. Az állatokat tarkóra mért ütéssel elbódítottuk, majd dekapitáltuk.

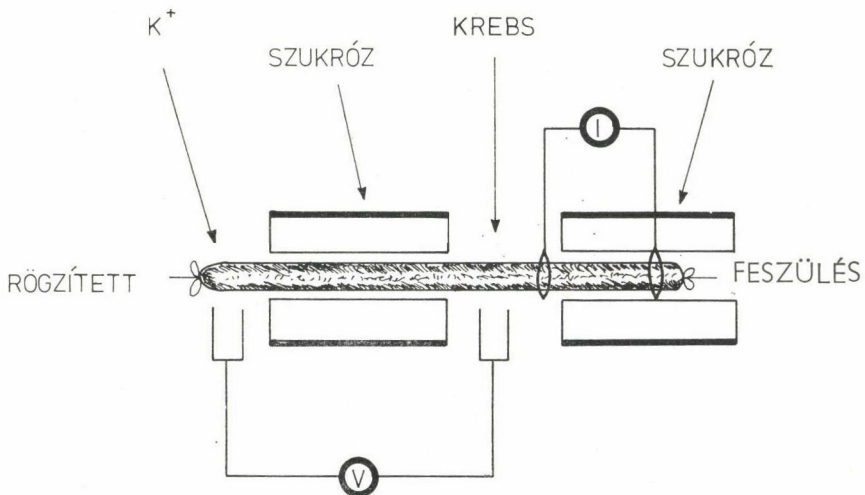
A caecumon hosszanti irányba futó taenia colit kipreparáltuk, és további felhasználásig karbogenizált (95%  $\text{O}_2 + 5\% \text{CO}_2$ ) Krebs-oldatba helyeztük.

A Krebs-oldat összetétele mmol-ban:  $\text{Na}^+$ : 138;  $\text{K}^+$ : 5,9;  $\text{Ca}^{2+}$ : 2,5;  $\text{Mg}^{2+}$ : 1,2;  $\text{Cl}^-$ : 120,2;  $\text{HCO}^-$ : 25;  $\text{SO}_4^{2-}$ : 1,2;  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$ : 1,2; glukóz: 11,5.  $\text{K}^+$ -mentes oldatból a  $\text{KCl}$ -ot elhagytuk, a  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ -ot  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ -al helyettesítettük, így az oldat 139,2 mM  $\text{Na}^+$ -ot és 115,5 mM  $\text{Cl}^-$ -ot tartalmazott.  $\text{Ca}^{2+}$ -mentes oldat a  $\text{CaCl}_2$  elhagyásával ( $\text{Cl}^-$ : 117,7 mM) és  $10^{-4}$  M EGTA (Ethylen-glycol-bis/beta-aminoethyl-ether/ $\text{N,N}'$ -tetraacetic acid: Fluka) hozzáadásával készült.

Az oldatok hőmérsékletét termosztáttal  $35^\circ\text{C}$ -on tartottuk. Vegyületek: l-adrenalin (Fluka); ouabain (Calbiochem); phentolamin (Ciba); propranolol (ICI). Az adrenalin fiziológias oldatban  $35^\circ\text{C}$ -on instabil (*Bülbring* és mtsai, 1966), ezért az ionkoncentrációk mérésénél a preparátumokat 10 percenként frissen készített oldatba helyeztük.

### 1. Mechanikus aktivitás mérése

A szövet mechanikus aktivitását izometriás körülmények között mértük. A preparátumot kettős falú szervtartó edényben függesztettük fel (kap.: 3,5 ml), egyik végét rögzítettük, másik végét „strain gauge” fejhez csatlakoztatuk. A kontrakciókat előerősítőn keresztül direktíróval regisztráltuk. Az oldatok cseréjét „overflow” technikával oldottuk meg.



1. ábra. „Sucrose-gap” technika. A módszer lehetővé teszi a szövet elektromos és mechanikus aktivitásának párhuzamos mérését. A jobb oldali elektódpárral ingerelt (C) preparátum elektromos válaszait a bal oldali elektódpárral (V) mértük („double-gap”). Ha nem ingereljük az izmot („single-gap”) a szövet spontán aktivitása mérhető. A szövet mechanikus aktivitását „strain gauge” fejjel regisztráltuk

## 2. Sucrose-gap technika („Single” és „double sucrosa-gap” módszer). Bülbring és Tomita (1969a) módszerét alkalmaztuk

A módszer lehetővé teszi az izom spontán elektromos és mechanikus aktivitásának mérésén túlmenően az elektrotónusos potenciál mérését is, mely felvilágosítást ad a membránellenállásra (R), illetve vezetőképességre (G).

Az egyik sucrose „gap” (1. ábra jobb oldalán) segítségével a preparátumot ingereljük, a másik „sucrose-gap” az elektromos válaszok regisztrálására szolgál. Az ingerlő elektródok 90% Pt és 10% Ir ötvöztetésével készültek.

Ha a regisztráló gap-hez közel eső ingerlő elektród a katód, a membrán depolarizálódik és tüske (spike) aktivitás jelentkezik, melyet kontrakció kísér. Ha a polaritást megfordítjuk hiperpolarizáció (elektrotónusos potenciál), spike aktivitás gátlás és relaxáció jön létre.

Az elektrotónusos potenciál nagysága lineárisan aránylik az áramerősséghez, azaz lehetőség nyílik az ún. áramerősség-feszültség kapcsolat („current-voltage relationship” meghatározására.)

## 3. Intracelluláris ionkoncentrációk mérése. Emissziós spektrofotometria

A preparátumokat 250 ml térfogatú 35 °C-ra melegített, carbogénnel telített Krebs-oldatot tartalmazó szervtartó edényekbe helyeztük. Az oldatok cseréjét a preparátumok egyik szervtartó edényből másikba való áthelyezésével oldottuk meg. A kísérletek végén az extracelluláris tér (ECS) ionmentesítését izotóniás cholin-Cl (0,8—2,5 °C) oldattal végeztük. A szövet nedves súlyának (n. s.) meghatározását követően a preparátumokat 1% Co<sup>3+</sup> vonatkozó fémét és 10% pro anal. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>-t tartalmazó 2× deszt. H<sub>2</sub>O-be helyeztük és 12—24 órán át equilibrálódni hagytuk. A preparátumok színképeinek felvételét PGS II (Zeiss) spektrográfon végeztük. Az atomokat (Na<sup>+</sup>, Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup>) nagyfeszültséggel (15—20 000 V) és áramerősséggel (1,6—1,8 A) gerjesztettük, majd az általuk kisugárzott fényt spektrográffal (PGS II) felbontottuk és 9×24 cm-es „Agfa-Gevaert” 31 D 65 típusú lemezekkel lefényképeztük. Az atomok karakterisztikus sugárzásának intenzitása és koncentrációja között összefüggés áll fenn (Török és mtsai, 1978). A meghatározásra került fémek analitikai vonalpárjainak hullámhossza (λ) nm egységekben a következők:

Na <sup>+</sup>	589,6	Na <sup>+</sup> (háttér int.)
Ca <sup>2+</sup>	422,7	Co <sup>3+</sup> 399,5
Mg <sup>2+</sup>	279,6	Co <sup>3+</sup> 304,4

A színvonalképek feketedéseinek intenzitását fotométeren mértük ki, majd kiértékelő készülék (Spektrátor) segítségével az analitikai vonalpárok intenzitásvizonyainak logaritmusát ((ΔY) kiszámítottuk.



A  $\Delta Y$  értékek és az ezekhez tartozó koncentrációk logaritmusai között lineáris összefüggés áll fenn. Az így elkészített kalibrációs görbékből egy ismeretlen fémkoncentráció a  $\Delta Y$  ismeretében interpolálással meghatározható.

Az intracelluláris ionkoncentrációkat az extracelluláris tér (ECS) és a száraz/nedves súly hányados (Casteels, 1966; Casteels és Kuriyama, 1966; Bülbring és mtsai, 1966) figyelembevételével Wespi (1969) formulájával  $\text{mmol} \cdot \text{kg}^{-1}$  nedves súly (n. s.)-ban számítottuk ki.

#### 4. „Rate constant” számítás

A  $\text{Na}^+$  intracelluláris térből való kiáramlásának sebességi állandóját (k) Kao és Nishiyama (1969) szerint elsőrendű kinetikájú egyenlet alapján számítottuk:

$$\text{Na}_t = (\text{Na}_0 - \text{Na}_\infty) \cdot (e^{-kt} + X_\infty)$$

ahol:

$\text{Na}_t$  = intracelluláris  $\text{Na}^+$  koncentráció a kiáramlás során egy adott „t” időpontban.

$\text{Na}_0$  = intracelluláris  $\text{Na}^+$  koncentráció a kiáramlás kezdetén.

$\text{Na}_\infty$  = intracelluláris  $\text{Na}^+$  koncentráció a kiáramlás végén.

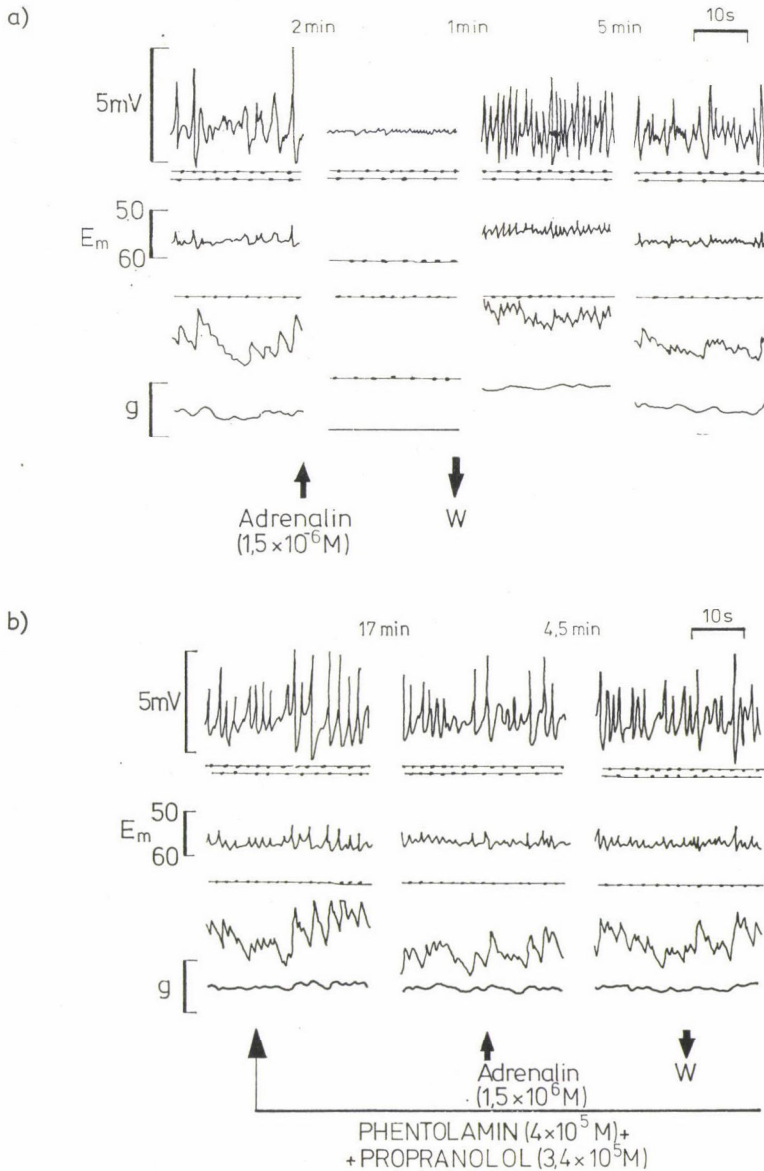
t = idő (percekben)

k = sebességi állandó

#### Eredmények és azok megbeszélése

##### Adrenalin elektrofiziológiai hatásai

Adrenalin  $1,5 \times 10^{-7}$ – $3,5 \times 10^{-5}$  M koncentráció tartományban hiperpolarizációt (1,5–6,8 mV), túske (spike) aktivitás gátlást és relaxációt hozott létre (2a. ábra). A csúcshyperpolarizáció ( $6,8 \pm 0,3$  mV;  $n = 5$ )  $6 \times 10^{-6}$  M adrenalin hatására jött létre. Kimosás után ún. „utódepolarizáció” jelentkezett (2a. ábra), melynek során a membrán potenciál ( $E_m$ ) a kontroll érték alá csökkent és kontrakció „utókontrakció” kíséretében a túske tevékenység fokozódott „rebound excitation”. Bülbring és Tomita (1977a) hasonló utódepolarizációt észlelt noradrenalin (NA) kimosás után.  $4 \times 10^{-5}$  M phentolamin és  $3,4 \times 10^{-5}$  M propranolol együttes alkalmazása a fenti hatásokat felfüggesztették (2b. ábra). Az elektrogén  $\text{Na}^+$ -transzport gátlása  $2 \times 10^{-5}$  M ouabainnal az adrenalin ( $1,5 \times 10^{-6}$  M) hiperpolarizációt  $5,6 \pm 1,2$  mV-ról  $3,6 \pm 0,2$  mV-ra: ( $n = 5$ ) csökkentette. Ha viszont az adrenalint ouabainnal mostuk ki az utódepolarizáló  $4,8 \pm 0,4$  ( $n = 5$ ) mV-ról  $8,2$  ( $n = 2$ ) mV-ra nőtt. A NA hiperpolarizáció hatását az ouabain ugyancsak gátolta agykéreg neuronon (Phillis és mtsai, 1968; Phillis, 1976) és harántesíkkolt izmon (Kozachuk és Phillis, 1978).

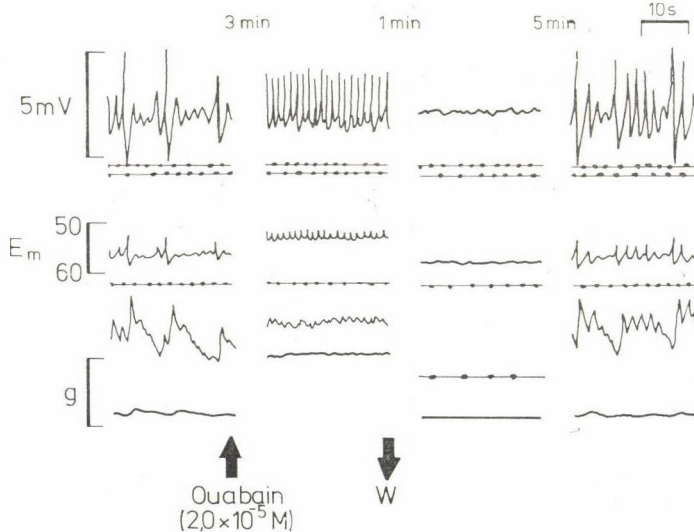


2. ábra. Adrenalin ( $1,5 \times 10^{-6} \text{M}$ ) hatása taenia coli spontán elektromos és mechanikus aktivitására. „single sucrose-gap” módszer. 1. csatorna (fentről lefele): tüske (spike) aktivitás AC erősítéssel regisztrálva; 2. csatorna: membrán potenciál ( $E_m$ ), 3. csatorna: spike integrál, 4. csatorna: mechanikus aktivitás DC erősítéssel mérve. (a) Adrenalin hatására az  $E_m$  nő (hiperpolarizáció), melynek során a spike aktivitás megszűnik és az izom elernyed. Kimosás (W) után ún. „utódepolarizáció” jön létre, melyet a tüske aktivitás frekvenciájának fokozódása és kontrakció kísér. (b) Phentolamin ( $4 \times 10^{-5} \text{M}$ ) propranolol ( $3,4 \times 10^{-5} \text{M}$ ) jelenlétében (előfolytatás: 18 perc) a fenti hatások elmaradnak

A membrán ATPáz gátló ouabainról *Casteels* (1966) kimutatta, hogy  $10^{-6}$  g/ml koncentrációban az általa létrehozott depolarizáció időben megelőzi a  $K^+$ -egyensúlyi potenciálváltozását. Közvetlenül az ouabain kimosása után (5 min) az intracelluláris  $K^+$  és  $Na^+$  koncentráció nem változott, az  $E_m$  ugyanakkor jelentősen nőtt (elektrogén hiperpolarizáció).

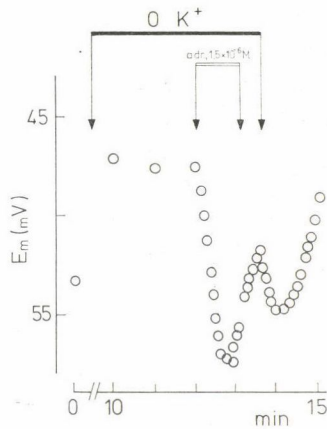
Kísérleteinkben  $2 \times 10^{-5}$  ouabain hatására (3. ábra) jelentkező depolarizáció 3 percen belül maximumot ért el ( $-56,9$  mV, kontroll;  $-48,3$  mV, ouabain;  $48,6$  mV). Ezen idő alatt az intracelluláris  $K^+$  koncentráció  $112,7 \pm \pm 2,3$  ( $n = 5$ ) mmol  $\cdot$  kg $^{-1}$  n. s.-ról  $110,5 \pm 2,0$  ( $n = 5$ ) mmol  $\cdot$  kg $^{-1}$  n. s.-ra csökkent. A számított  $E_K$   $-78,3$  mV-ról  $-77,8$  mV-ra csökkent csupán ouabain hatására. A módosított „Goldman—Hodgkin—Katz” egyenlet (*Mullins* és *Noda*, 1963; *Gorman* és *Marmor*, 1974) alapján számított  $E_m$  ( $-55,4$  mV) jól egyezik a mért értékkel ( $P_{Na}/P_K : 0,09$ ;  $Na^+$ -pumpa kuplung aránya: 1,5). Ouabain ( $2 \times 10^{-5}$  M; 3 perc) jelenlétében számított membránpotenciál  $-54,9$  mV, alig különbözik a kontroll értéktől, jóllehet ouabain hatására az  $E_m$   $-48,3$  mV-ra csökkent. Ezen adatok arra utalnak, hogy sem az  $E_K$ , sem az  $E_{diff}$  potenciál nem ad felvilágosítást az  $E_m$  változására a membrán ATPáz ouabainnal való gátlása esetén.

Az elektrogén  $Na^+$ -pumpa  $K^+$ -mentes közeggel való gátlása során az adrenalin hiperpolarizáló hatása fokozódott (4a. ábra).  $K^+$ -megvonására a membránpotenciál csökkent ( $45-7$  mV). A depolarizáció nem magyarázható

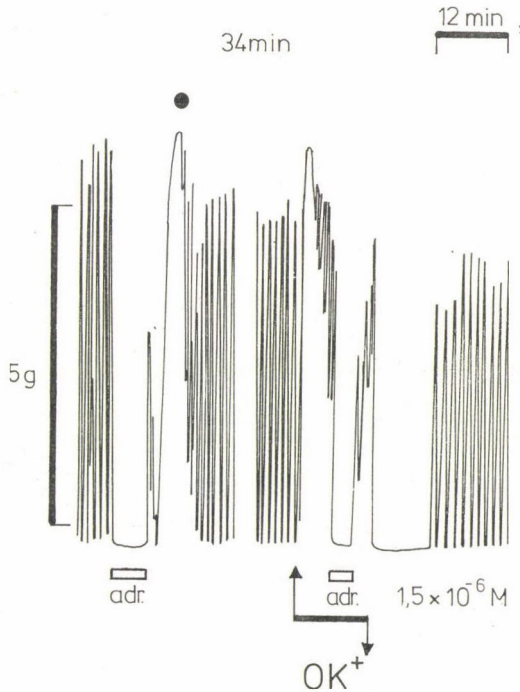


3. ábra.  $2 \times 10^{-5}$  M ouabain depolarizáló hatása spontán aktív taenia coli ( $35^\circ C$ ). „Single sucrose-gap”. A csatornák megegyeznek a 2. ábra szövegében ismertetettekkel. Az ouabain depolarizációt, spike frekvencia fokozódást és kontrakciót hozott létre. A depolarizáció 3 percen belül maximumot ért el. Kimosás (W) után elektrogén hiperpolarizáció, a tüske aktivitás teljes gátlása és relaxáció jött létre

a)



b)



4. ábra. Az elektrogén Na<sup>+</sup>-pumpa gátlásának (OK<sup>+</sup>) és reaktiválásának (5,9 mM K<sup>+</sup>-visszaadása) hatásai taenia coli simaizom spontán elektromos (a) és mechanikus (b) aktivitására. (a) K<sup>+</sup>-mentes Krebs-oldatban depolarizáció alakult ki, melyet  $1,5 \times 10^{-6}$ M adrenalin felfüggesztett. Az adrenalin kimosása utáni pompa reaktiváció során „utódepolarizáció” nem jött létre, sőt az  $E_m$  átmenetileg nőtt. (b) Mechanikusan spontán aktív taenia colit az adrenalin elernyeszti. Kimosás után ún. „utókontrakció” (●) fejlődött ki, melyet a spontán aktivitás visszatérése követett. OK<sup>+</sup> hatására az izom összehúzódott, melyet az adrenalin felfüggesztett. Az adrenalin kimosása után az izom alaptónusa nőtt, „utókontrakció” azonban nem jött létre, ha a Na<sup>+</sup>-pumpát K<sup>+</sup>-mal reaktiváltuk

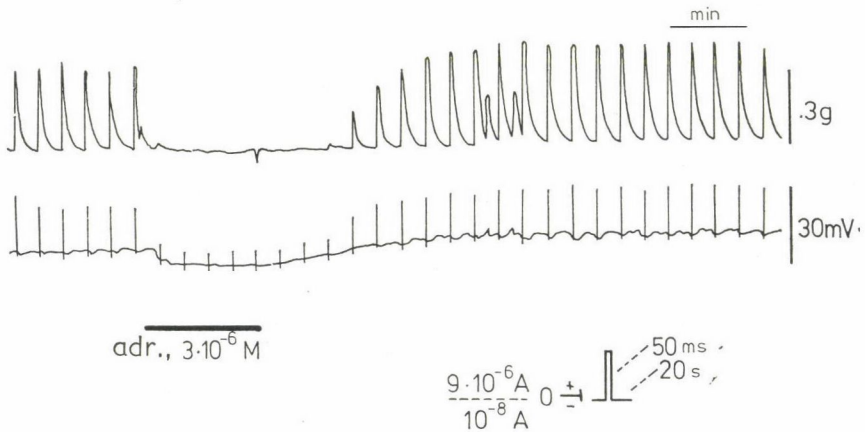


meg a „Nernst”-összefüggéssel, mivel  $K^+$ -mentes közegben a  $K^+$  belső/külső hányados értéke növekszik. Ez a tény, továbbá, hogy  $K^+$ -mentes közeg után visszaadott  $K^+$  hatására jelentkező hiperpolarizációt a membrán ATPáz gátló ouabain felfüggeszti egyértelműen arra utal, hogy az elektrogén  $Na^+$ -pumpa felelős teljes egészében az ilyen körülmények között mért  $E_m$  változásért.

A membrán ATPáz gátlása után alkalmazva az adrenalint ( $1,5 \times 10^{-6}$  M) a hiperpolarizáció 5,9 mV-ról  $10,2 \pm 2,4$  ( $n = 4$ ) mV-ra nőtt. Az adrenalin kimosása után a  $E_m$  csökkent (repolarizáció). A repolarizáció során reaktiválva a  $Na^+$ -pumpát (5,9 mM  $K^+$ -visszaadásával a külső közegbe) „utódepolarizáció” nem jött létre (4a. ábra), sőt a  $E_m$  átmenetileg nőtt.  $Na^+$ -terhelés ( $OK^+$ ) után a külső közegbe visszaadott  $K^+$  az „utókontrakciót” is felfüggesztette (4b. ábra) mechanikusan spontán aktív taenia colin.

*Adrenalin hatása az intracelluláris  $Na^+$ -koncentrációra és a  $Na^+$ -pumpa „turnover rate”-jére:*

Kísérleteink során választ kívántunk kapni arra a kérdésre, hogy mi lehet az oka az adrenalin kimosása után következetesen jelentkező utódepolarizációnak, mely ingerelt preparátumon is létrejött (5. ábra).



5. ábra. 20 sec.-onként alkalmazott  $9 \times 10^{-6}$  A erősségű 50 msec. időtartamú „outward current” akciós potenciál (AP)-t és kontrakciót hoz létre. A spontán aktivitás gátlását  $10^{-8}$  A erősségű „inward current” segítségével biztosítottuk.  $3 \times 10^{-6}$  M adrenalin hatására hiperpolarizáció, AP-gátlás és relaxáció jelentkezik. Kimosás után utódepolarizáció jött létre, mely spontán AP-t generált kontrakció kísérletében

Adrenalin hatására a szövet intracelluláris  $Na^+$ -koncentrációja  $30,1$  mmol  $\cdot$  kg $^{-1}$  nedves súly (n. s.)-ról  $21,6$  mmol  $\cdot$  kg $^{-1}$  n. s.-ra csökkent a terhelés első 10 perce során (1. táblázat).

Az ezt követő 50 perc alatt viszont a  $Na^+$  csak  $2,2$  mmol  $\cdot$  kg $^{-1}$  n. s.-al csökkent. Az  $Na^+$ -vesztés sebességi állandója — Kao és Nishiyama (1969) szerint számolva —  $0,26$  min $^{-1}$  volt a terhelés első fázisában (10 perc), mely  $0,05$



min<sup>-1</sup>-re csökkent a terhelés második fázisában (50 perc). Az irodalomból jól ismert, hogy a Na<sup>+</sup>-pumpa aktivitása intracelluláris Na<sup>+</sup>-koncentráció (Na<sup>+</sup>)<sub>b</sub> függő (Kerkut és Thomas, 1965; Adrian és Slayman, 1966; Rang és Ritchie, 1968; Thomas, 1969; 1972; Tomita és Yamamoto, 1971; Baker és mtsai, 1969). A (Na<sup>+</sup>)<sub>b</sub> csökkenése a Na<sup>+</sup>-pumpa (membrán ATPáz) gátlását vonja maga után. A Na<sup>+</sup>-efflux K<sup>+</sup>-belépéssel kapcsolatos, mely egy további, bár kismérvű pompa gátlást eredményez. Ez megmagyarázhatja az adrenalin Na<sup>+</sup>-koncentrációt csökkentő hatásában tapasztalt különbözőséget a terhelés két fázisa során. Az adrenalin kimosása után a már lecsökkent intracelluláris Na<sup>+</sup>-koncentráció következtében az ATPáz részleges gátlás alatt áll, melynek következményeként a Na<sup>+</sup>-influx megnő. Az adrenalin kimosása után a (Na<sup>+</sup>)<sub>b</sub> valóban emelkedik (1. táblázat).

1. táblázat

$3 \times 10^{-5} M$  adrenalin és  $2 \times 10^{-5} M$  ouabain hatása taenia coli intracelluláris Na<sup>+</sup> és Ca<sup>++</sup> koncentrációira. Az extracelluláris ionok kimosására cholin Cl-ot használtunk

	mmol.kg <sup>-1</sup> n. s.		Na <sup>+</sup> -vesztés sebess. áll. (min) <sup>-1</sup>
	(Na <sup>+</sup> ) <sub>b</sub>	(Ca <sup>++</sup> ) <sub>b</sub>	
Kontroll (3 perc, n = 2)	30,1	1,5	
Kontroll (60 perc, n = 5)	35,1 ± 1,5	1,7 ± 0,3	
Adrenalin (3 perc, n = 4)	30,9 ± 3,9	1,5 ± 0,4	
Adrenalin (10 perc, n = 3)	21,6 ± 3,3	1,4 ± 0,5	0,26
Adrenalin (60 perc, n = 4)	19,4 ± 2,5	1,5 ± 0,2	0,05
Adrenalin (60 perc), kimosás (10 perc, n = 4)	45,3 ± 3,7	1,7 ± 0,4	
OCa <sup>++</sup> + 0,1 mM EGTA (90 perc, n = 5)	9,9 ± 1,5	0,6 ± 0,1	
OCa <sup>++</sup> + 0,1 mM EGTA (30 perc) + adrenalin (60 perc, n = 5)	6,0 ± 2,1	0,15 ± 0,05	
Adrenalin + ouabain (60 perc, n = 4)	79,1 ± 8,8	3,4 ± 0,9	
Ouabain (60 perc, n = 7)	90,9 ± 4,7	2,8 ± 0,3	

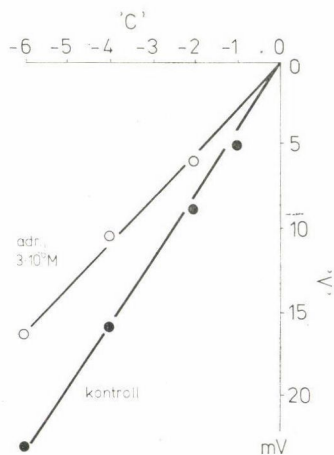
n = kísérletek száma

Adrenalin hatására (10 perc) 3,54 p-mol · cm<sup>-2</sup> · sec<sup>-1</sup> a transzportált Na<sup>+</sup>-mennyisége 1,5 μm (Freeman—Narrod és Goodford, 1962) sejttérfogat/felszín hányadost véve alapul. Ha a Na<sup>+</sup>-pumpa kuplung aránya 3 : 2 (Droogmans és Casteels, 1976; Brading és Widdicombe, 1974; Török és mtsai, 1979), akkor a Na<sup>+</sup>-efflux 1/3-a nem áll kapcsolatban K<sup>+</sup>-belépéssel. Így az adrenalin által létrehozott áramerősség  $1,18 \times 10^{-7} A \cdot cm^{-2}$ .

A számított hiperpolarizáció 5,9—9,4 mV (50—80  $k\Omega\text{cm}^{-2}$  membrán ellenállás mellett; Tomita, 1970). Ha figyelembe vesszük, hogy az adrenalin fokozza a membrán vezetőképességét (6. ábra), a számított értékek viszonylag jól egyeznek a mért értékkel (6,8 mV). Az 1 perc alatt 1 pumpa helyen transzportált  $\text{Na}^+$ -ionok száma 4680 (1  $\mu\text{m}^2$  membránfelület 275 pumpahelyet tartalmaz; Brading és Widdicombe, 1974), feltételezve, hogy az adrenalin hatására a pumpahelyek száma nem változik. Soleus izmon a  $^3\text{H}$ -ouabain membránhoz való kötődése adrenalin jelenlétében nem változik (Clausen és Hansen, 1977). Az első 10 percet követő 50 perc során az adrenalin hatására 0,74  $\text{pmol} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{sec}^{-1}$  a transzportált  $\text{Na}^+$ -mennyisége, mely megfelel 960  $\text{Na}^+$  ion percenkénti kilépésének az intracelluláris térből.

Gabella (1973, 1976) morfológiai kísérletekben taenia colin kimutatta, hogy minden egyes sejtmembrán felszíne kb. 168 000 caveolát tartalmaz, melyek a sejtfelszín 29%-át teszik ki és 73%-kal növelik a sejtmembrán felületét. A caveolák révén az intracelluláris tér minden része rendkívül közel kerül a plazma membránhoz és így az extracelluláris térhez (Brading, 1978).

A caveolák révén megnövekedett sejtfelszín a sejttérfogat/felszín hányadost 0,39  $\mu\text{m}$ -re csökkenti (Gabella, 1976). Az ennek alapján számított hiperpolarizáció messze elmarad a mért értéktől, ugyanis az adrenalinnal való terhelés első tíz perce során a transzportált  $\text{Na}^+$ -mennyisége 0,77  $\text{pmol} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{sec}^{-1}$  és percenként csak 2160  $\text{Na}^+$  ion lép ki egy pumpahelyen. A megnövekedett sejtfelszín következtében a membránellenállás 50—80  $k\Omega\text{cm}^{-2}$ -ről 13—21  $k\Omega\text{cm}^{-2}$ -re csökken és 1  $\mu\text{m}^2$  membránfelület 130 pumpahelyet tar-



6. ábra Áramerősség-feszültség kapcsolat taenia coli simaizmon kontroll (●—●) körülmények között és  $3 \times 10^{-6}\text{M}$  adrenalin (○—○) hatására. Abszcissza: áramerősség (C) önkényesen választott egységekben; ordináta: elektrotónusos potenciál (V) mV-okban. Adrenalin hatására az elektrotónusos potenciál csökken, mely az  $U = I \cdot R$  összefüggés alapján a membránellenállás csökkenését jelenti



talmaz csupán (*Brading*, közlés alatt). A számított hiperpolarizáció 0,3—0,5 mV ( $I = 2,57 \times 10^{-8} \text{ A} \cdot \text{cm}^{-2}$ ), mely érték valószínűleg még alacsonyabb, mivel az adrenalin csökkenti a membránellenállást (6. ábra). A terhelés második fázisában (50 perc)  $0,039 \text{ pmol} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{sec}^{-1}$  a pumpa által transzportált Na<sup>+</sup>-mennyisége, a pumpa „turnover rate”-je pedig 108/perc.

A fentiekén túlmenően jöllehet az adrenalinall létrehozott hiperpolarizáció 20—40 sec.-on belül maximumot ér el, az intracelluláris Na<sup>+</sup>-koncentráció azonban a terhelést követő 3 percen belül nem változik (1. táblázat). Ezek alapján teoretikusan felvetődik az a lehetőség, hogy az adrenalin hiperpolarizációért közvetlenül a membrán ATPáz aktiváció felelős.  $2 \times 10^{-5} \text{ M}$  ouabain felfüggesztette az adrenalin intracelluláris Na<sup>+</sup>-koncentrációt csökkentő hatását (1. táblázat).

#### *Az adrenalin hatása és a szövet Ca<sup>++</sup> koncentrációja közötti kapcsolat*

Extracelluláris Ca<sup>++</sup> szükséges az adrenalin  $\alpha_1$ -receptort izgató hatásához (*Bülbring és Tomita*, 1969c, 1977; *Török és mtsai*, 1977; *Török és Vizi*, 1980). Ca<sup>++</sup>-mentes közegben 0,1 mM EGTA jelenlétében depolarizáció ( $5,6 \pm 0,5 \text{ mV}$ ,  $n = 5$ ), átmeneti frekvencia-fokozódás után tüske aktivitás gátlás és relaxáció jött létre. Az intracelluláris Ca<sup>++</sup> koncentráció 1,5 ( $n = 2$ ) mmol  $\cdot \text{kg}^{-1}$  n. s.-ról  $0,6 \pm 0,1 \text{ mmol} \cdot \text{kg}^{-1}$ ; ( $n = 9$ ) n. s.-ra, a (Na<sup>+</sup>)<sub>b</sub> pedig 30,1 ( $n = 2$ ) mmol  $\cdot \text{kg}^{-1}$  n. s.-ról  $13,4 \pm 1,9$  ( $n = 9$ ) mmol  $\cdot \text{kg}^{-1}$  n. s.-ra csökkent (1. táblázat). Ismeretes, hogy a Ca<sup>++</sup> gátolja a membrán ATPázt, mely hatás a membrán belső felszínére lokalizálódik (*Skou*, 1957, 1960; *Somogyi*, 1964; *Schwartz és Matsui*, 1967; *Tobin és mtsai*, 1973). *Augustus* (1976) szerint az alacsony (Na<sup>+</sup>)<sub>b</sub> az igen alacsony intracelluláris Ca<sup>++</sup> koncentrációra vezethető vissza. Így tehát az intracelluláris Na<sup>+</sup>-koncentráció csökkenés oka Ca<sup>++</sup>-mentes közegben a pumpa aktivációjával magyarázható. Ca<sup>++</sup>-mentes közegben adrenalin hatására mind a (Ca<sup>++</sup>)<sub>b</sub>, mind a (Na<sup>+</sup>)<sub>b</sub> tovább csökkent (1. táblázat), hiperpolarizáció azonban nem jött létre. Ennek valódi okát nem ismerjük. Harántcsikolt izmon a NA E<sub>m</sub>-re gyakorolt hatása szintén Ca<sup>++</sup>-függőnek bizonyult (*Kozachuk és Phillis*, 1978).

*Godfraind és mtsai* (1974) kimutatták, hogy a katecholaminok izgatják a membrán ATPázt, mely hatáshoz Ca<sup>++</sup> jelenléte szükséges. A katecholaminok membrán ATPázt izgató hatását más szerzők is igazolták (*Schaefer és mtsai*, 1972; *Yoshimura*, 1973; *Logan és O'Donovan*, 1975; *Ádám—Vizi és mtsai*, 1979), mely hatás alfa-receptoron keresztül valósul meg (*Gilbert és mtsai*, 1975).

Így feltételezhető, hogy az adrenalin posztszinaptikus  $\alpha_1$ -receptoron keresztül megvalósuló hiperpolarizáció hatása a Ca<sup>++</sup> membrán ATPázra (elektrogén Na-transzportra) gyakorolt gátló effektusának felfüggesztésében áll.



Az eddigiekben már utaltunk arra, hogy az elektrogén  $\text{Na}^+$ -pumpa reaktiválása a külső közegbe visszaadott  $\text{K}^+$ -mal felfüggesztette az adrenalin kimosását követő „rebound excitation”-t (utódepolarizációt).

$\text{Na}^+$ -terhelés ( $\text{K}^+$ -mentes Krebs) során az intracelluláris  $\text{Ca}^{++}$ -koncentráció nem változik szignifikánsan (2. táblázat), jóllehet a  $\text{Na}^+$ -grádiens lecsök-

2. táblázat

*$\text{Na}^+$ -terhelés után visszaadott  $\text{K}^+$  hatása a szövet  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Ca}^{++}$  és  $\text{Mg}^{++}$  koncentrációira, adrenalin jelenlétében és hiányában*

	mmol.kg <sup>-1</sup> n. s.		
	$\text{Na}^+$	$\text{Ca}^{++}$	$\text{Mg}^{++}$
Kontroll (180 perc, n = 5)	42,2 ± 1,7	1,8 ± 0,1	14,3 ± 1,0
$\text{K}^+$ -mentes (180 perc, n = 5)	91,9 ± 6,8	1,9 ± 0,1	14,6 ± 0,7
5,9 mM $\text{K}^+$ visszaadása (3,5 perc, n = 4)	60,8 ± 2,8	4,1 ± 0,5	10,9 ± 0,3
5,9 mM $\text{K}^+$ visszaadása (15 perc, n = 5)	48,8 ± 7,1	1,2 ± 0,2	12,8 ± 0,5
5,9 mM $\text{K}^+$ visszaadása * (15 perc, n = 4)	70,5 ± 7,6	11,9 ± 6,8	7,6 ± 0,6
5,9 mM $\text{K}^+$ visszaadása (30 perc, n = 4)	24,9 ± 8,1	1,0 ± 0,3	9,7 ± 0,9
5,9 mM $\text{K}^+$ visszaadása * (30 perc, n = 5)	55,6 ± 2,1	10,2 ± 4,3	8,3 ± 0,8

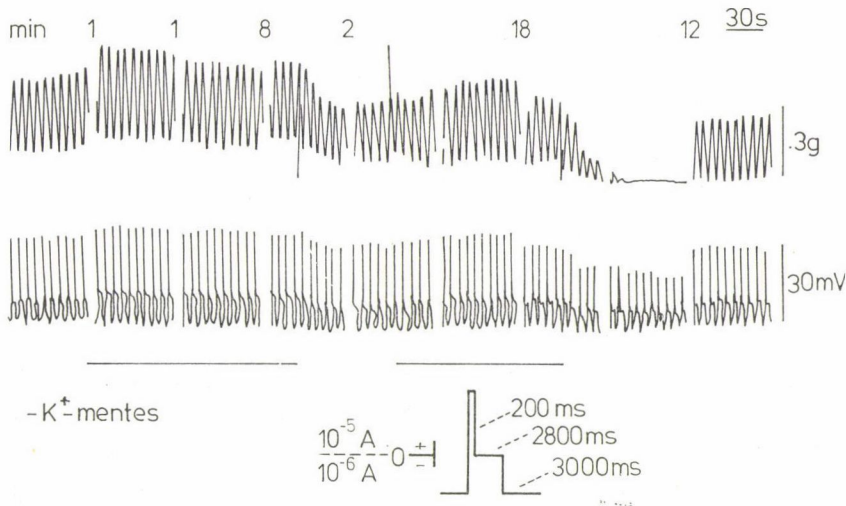
\* + 3,10<sup>-5</sup> M adrenalin  
n = kísérletek száma

kenése következtében a belépő  $\text{Ca}^{++}$ -mennyisége nő (Baker és Blaustein, 1968; Baker és Manil, 1968; Baker és mtsai, 1969; Dietmer és Ellis, 1978). Ennek feltehetően az az oka, hogy a plazma membrán ATP-függő  $\text{Ca}^{++}$  pumpája (Schatzmann, 1966; Schatzmann és Vincenzi, 1969; Casteels és mtsai, 1973) — amely nyugalmi körülmények között nem működik teljes kapacitással — kompenzálni képes a  $\text{Na}^+$ -gradiens lecsökkenéséből származó fokozott  $\text{Ca}^{++}$ -belépést.

A  $\text{K}^+$ -visszaadása pillanatában az intracelluláris  $\text{Na}^+$ -koncentráció magas, mely teljes ATPáz aktivációt okoz.

A hiperpolarizáció egyértelműen a membrán ATPáz aktiváció következménye. Ugyanis ouabain jelenlétében visszaadott  $\text{K}^+$  hatására az  $E_m$  nem változik (Taylor és mtsai, 1970; Casteels és mtsai, 1971; Török és Vizi, 1979), annak ellenére, hogy a passzív ouabainnal nem gátolható  $\text{K}$ -influx és  $\text{Na}$ -efflux a membrán-potenciált negatív irányba tolná el. Az ouabain specifikus hatású, csak a membrán ATPázt gátolja.

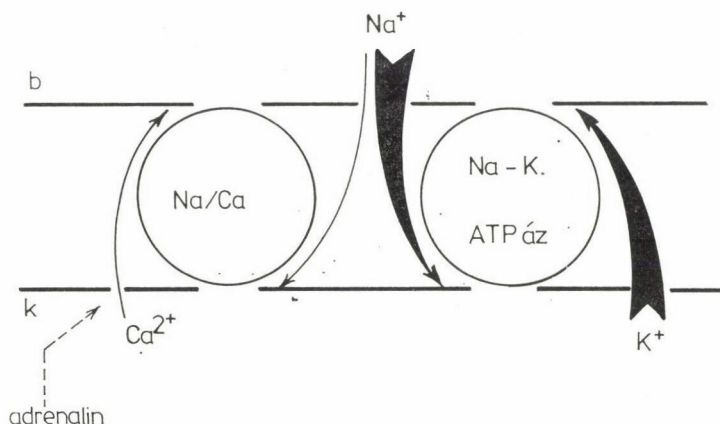
Az intracelluláris Na<sup>+</sup>-vesztéssel és K<sup>+</sup>-belépéssel párhuzamosan a szövet a Ca<sup>++</sup>-koncentrációja emelkedik (2. táblázat);  $1,9 \pm 0,1$  mmol · kg<sup>-1</sup> n. s.-ról  $4,1 \pm 0,5$  mmol · kg<sup>-1</sup> n. s.-ra (3,5 perc). A belépő Ca<sup>++</sup> mennyisége nagyságrendekkel nagyobb mint amennyi a szövet teljes aktivációjához szükséges. Ennek ellenére hiperpolarizáció, tüskeaktivitás gátlás és relaxáció jön létre (7. ábra). Järnefelt (1962) kimutatta, hogy a Ca<sup>++</sup> csak abban az esetben gátolja a membrán ATPázt, ha az enzim Na<sup>+</sup> és K<sup>+</sup> aktiváció alatt áll. Az intracelluláris Na<sup>+</sup>-koncentráció 3,5 perccel a K<sup>+</sup> visszaadása után  $91,9 \pm 6,8$  mmol · kg<sup>-1</sup> n. s.-ról  $60,8 \pm 2,8$  mmol · kg<sup>-1</sup> n. s.-ra csökkent.



7. ábra.  $10^{-5}$  A erősségű 200 msec. időtartamú depolarizáló áram (outward current) akciós potenciál (AP)-t és kontrakciót,  $10^{-6}$  A erősségű 3 sec. időtartamú hiperpolarizáló áram (inward current) elektrotónusos potenciált hoz létre. K<sup>+</sup>-mentes közegben (OK<sup>+</sup>) depolarizáció, kontrakció és a membrán vezetőképességének csökkenése (elektrotónusos potenciál növekedése) jelentkezik. K<sup>+</sup> (5,9 mM) visszaadására elektrogén hiperpolarizáció, relaxáció és a membrán ellenállásának csökkenése jön létre, melynek mértéke a kezdeti Na<sup>+</sup>-terhelés függvénye

A pumpa reaktiválása után 30 perccel a (Na<sup>+</sup>)<sub>b</sub> a kontroll érték alá csökkent ( $117,3$  mmol · kg<sup>-1</sup> n. s.).

Adrenalin ( $3 \times 10^{-5}$  M) jelenlétében visszaadott K<sup>+</sup> hatására az intracelluláris Na<sup>+</sup>-koncentráció csökkenése jóval lassúbb volt; 15 perc:  $70,5 \pm 7,6$  mmol, 30 perc:  $55,6 \pm 2,1$  mmol. Adrenalin hiányában ezek az értékek  $48,8 \pm 7,1$  mmol (15 perc), illetve  $24,9 \pm 8,1$  mmol (30 perc) voltak. A szövet Ca<sup>++</sup>-koncentrációja magas maradt; 15 perc:  $11,9 \pm 6,8$ , 30 perc:  $10,2 \pm 4,3$  mmol · kg<sup>-1</sup> n. s., a Mg<sup>++</sup>-koncentráció gyakorlatilag nem változott (2. táblázat). Az intracelluláris Na<sup>+</sup>-koncentráció csökkenésének időbeli késését adrenalin hatására megmagyarázhatjuk az ún. „ouabain insensitive” Na<sup>+</sup>-efflux Ca<sup>++</sup>-függő komponensével (8. ábra).



8. ábra. Az adrenalin hatásának hipotetikus modellje, a membrán ATPáz  $K^+$ -mal való reaktivációja során. Az intracelluláris  $Na^+$  ún. „ouabain insensitive” komponense részben extracelluláris  $Ca^{++}$ -mal cserélődik (Baker és mtsai., 1969; Dietmer és Ellis, 1978). Ez esetben a Na/Ca csere fordított előjellel működik. Az intracelluláris  $Na^+$ -koncentráció csökkenésének időbeni késése valószínűleg az adrenalin  $Ca^{++}$ -influx-ot gátló hatásának a következménye.

b: membrán belső-; k: külső-felzíne; --> gátlás

Az intracelluláris  $Na^+$  azon mennyisége, amely extracelluláris  $Ca^{++}$ -mal cserélődik (Baker és mtsai, 1969) az adrenalin  $Ca^{++}$  influxra gyakorolt gátló hatása folytán nem jön létre, így a  $(Na^+)_b$  csökkenése időben késik. A megemelkedett szöveti  $Ca^{++}$ -koncentráció magyarázata már jóval nehezebb, mivel a  $Ca^{++}$ -influx gátlás alatt áll. Mivel az extracelluláris tér ionmentesítését Cholin-Cl-dal végeztük, elképzelhető, hogy a  $Ca^{++}$  egy része membránhoz kötött. A Cholin-Cl — szemben a  $La^{3+}$ -nal — a membrán negatív töltésű kötődési helyeit nem foglalja el.

### Összefoglalás

Kimutattuk, hogy az adrenalin aktiválja az elektrogén  $Na^+$ -transzportot, melyet az ouabain gátol. Ez megnyilvánul mind a membránpotenciál, mind az intracelluláris  $Na^+$ -koncentráció változásában. Az adrenalin kimosását követő „utódepolarizációt” szintén a  $Na^+$ -pumpa aktivitásának változásával magyarázzuk. Az utódepolarizációt a pompa gátlása (ouabain) fokozta, a pompa reaktiválása ( $K^+$ -visszaadása) pedig gátolta.

Harántcsikolt izmon Kozachuk és Phillis (1978) kimutatták, hogy a NA hiperpolarizáció ouabainnal gátolható. Soleus izom  $^{22}Na$ -kiáramlását és  $^{42}K$ -belépését az adrenalin és a NA fokozta, melyet az ouabain felfüggesztett. Adrenalin hatására az intracelluláris K/Na arány megháromszorozódott (Clausen és Flatmen, 1977). Kísérleteinkben a  $Na^+$ -pumpa „turnover rate”-je adrenalin hatására a sejt térfogat/felzín arányától függően  $4680 \cdot \text{min}^{-1}$ , illetve  $2160 \cdot$



· min<sup>-1</sup>. Ezek az értékek magasabbak mint a nyugalmi körülmények között mért „turnover rate” (1320/perc; *Brading és Widdicombe*, 1974). A számított hiperpolarizáció *Gabella* (1973, 1976) morfológiai kutatásait véve alapul nem egyezik a mért értékkel, mely két okra vezethető vissza: 1. közvetlen membrán ATPáz aktiváció; 2. a pumpától független K<sup>+</sup>-permeabilitás fokozódása (*Bülbring* és iskolája). A membrán ATPáz oki szerepére utal az a tény, hogy az adrenalin hatására a (Na<sup>+</sup>)<sub>b</sub> nem változik azonnal (3 perc).

A külső K<sup>+</sup>-függő elektrogén hiperpolarizáló áram (Na<sup>+</sup>-pumpa) közvetlenül közreműködik a membránpotenciál fenntartásában (*Casteels és mtsai*, 1971; *Tomita és Yamamoto*, 1971; *Bolton*, 1973; *Török és Vizi*, 1980). A Na<sup>+</sup>-pumpa aktiválása adrenalinral további hiperlokalizációban nyilvánul meg.

Az irodalmi adatokkal megegyezően az α<sub>1</sub>-hatás Ca<sup>++</sup>-függő. *Godfraind* és *mtsai* (1974) kimutatták, hogy a membrán ATPáz csak az esetben aktiválható catecholaminokkal, ha az Ca<sup>++</sup>-gátlás alatt áll. Ca<sup>++</sup>-mentes közegben a hiperpolarizáció elmarad, de a (Na<sup>+</sup>)<sub>b</sub> tovább csökken.

Na<sup>+</sup>-terhelés után az adrenalin gátolja a K<sup>+</sup> visszaadására létrejövő elektrogén Na<sup>+</sup>-transzportot, melynek oka valószínűleg az intracelluláris Na<sup>+</sup> extracelluláris Ca<sup>++</sup>-mal való cseréjének gátlásában keresendő, jóllehet egyes preparátumokon (pl. szimpatikus ganglion sejteken; *Akasu és Koketsu*, 1976) a K<sup>+</sup> visszaadásával létrehozott hiperpolarizációt az adrenalin fokozza. További elektrofiziológiai kísérletek szükségesek annak eldöntésére, hogy taenia colin az E<sub>m</sub> és az intracelluláris ionkoncentrációk változása korrelációban állnak-e, vagy sem.

#### IRODALOM

- Ádám-Vizi, V., Vizi, E. S. és Horváth, L.*: J. Neural. Transm. **46**, 59 (1979).  
*Adrian, R. H. és Slayman, C. L.*: J. Physiol. **184**, 970 (1966).  
*Ahlquist, R. P.*: J. Physiol. **153**, 586 (1948).  
*Akasu, T. és Koketsu, K.*: Experientia **32/1**, 57 (1976).  
*Augustus, J.*: Biochim. Biophys. Acta **419**, 63 (1976).  
*Axelsson, J., Bueding, E. és Bülbring, E.*: J. Physiol. **156**, 357 (1961).  
*Baker, P. F. és Blaustein, M. P.*: Biochim. Biophys. Acta, **150**, 167 (1968).  
*Baker, P. F., Blaustein, M. P., Hodgkin, A. L. és Steinhardt, R. A.*: J. Physiol. **200**, 431 (1969).  
*Baker, P. F. és Manil, J.*: Biochim. Biophys. Acta **150**, 328 (1968).  
*Bolton, T. B.*: J. Physiol., **228**, 693 (1973).  
*Born, G. V. R. és Bülbring, E.*: J. Physiol. **131**, 690 (1956).  
*Brading, A. F.*: J. Physiol. **275**, 65 (1978).  
*Brading, A. F. és Widdicombe, J. H.*: J. Physiol. **238**, 235 (1974).  
*Bülbring, E., Goodford, P. J. és Seteklev, J.*: Br. J. Pharmacol. **28**, 296 (1966).  
*Bülbring, E. és Kuriyama, H.*: Phil. Trans. Roy. Soc. B. **265**, 115 (1973).  
*Bülbring, E. és Tomita, T.*: Proc. Roy. Soc. B. **172**, 89 (1969a).  
*Bülbring, E. és Tomita, T.*: Proc. Roy. Soc. B. **172**, 103 (1969b).  
*Bülbring, E. és Tomita, T.*: Proc. Roy. Soc. B. **172**, 121 (1969c).  
*Bülbring, E. és Tomita, T.*: Proc. Roy. Soc. B. **197**, 255 (1977a).  
*Bülbring, E. és Tomita, T.*: Proc. Roy. Soc. B. **197**, 271 (1977b).  
*Casteels, R.*: J. Physiol. **184**, 131 (1966).  
*Casteels, R., Droogmans, G. és Hendrickx, H.*: J. Physiol. **217**, 297 (1971).  
*Casteels, R., Droogmans, G. és Hendrickx, H.*: Phil. Trans. R. Soc. B. **265**, 47 (1973).

- Casteels, R. és Kuriyama, H.: *J. Physiol.* **184**, 120 (1966).
- Clausen, T. és Flatman, J. A.: *J. Physiol.* **270**, 383 (1977).
- Clausen, T. és Hansen, O.: *J. Physiol.* **270**, 415 (1977).
- Dietmer, J. W. és Ellis, D.: *J. Physiol.* **284**, 241 (1978).
- Droogmans, G. és Casteels, R.: In: *Physiology of Smooth Muscle* ed. by E. Bülbiring and M. Shuba, Raven Press, New York, 11 (1976).
- Freeman-Narrod, M. és Goodford, P. J.: *J. Physiol.* **163**, 399 (1962).
- Gabella, G.: *Phil. Trans. R. Soc. B.* **265**, 7 (1973).
- Gabella, G.: *Cell. Tiss. Res.* **170**, 161 (1976).
- Gilbert, I. C., Wyllie, M. G. és Davison, D. V.: *Nature* **255**, 237 (1975).
- Godfraind, R., Koch, M. C. és Verbeke, N.: *Biochem. Pharmacol.* Vol. **23**, 3505 (1974).
- Gorman, A. L. F. és Marmor, M. F.: *J. Physiol.* **242**, 49 (1974).
- Järnefelt, J.: *Biochim. Biophys. Acta* **59**, 643 (1962).
- Kao, C. Y. és Nishiyama, A.: *Am. J. Physiol.* **217**, 525 (1969).
- Kerkut, G. A. és Thomas, R. C.: *Comp. Biochem. Physiol.* **14**, 167 (1965).
- Kozachuk, W. E. és Phillis, J. W.: *Gen. Pharmac.* **9**, 235 (1978).
- Logan, J. G. és O'Donovan, D. J.: *J. Physiol.* **250**, 47 (1975).
- Mullins, L. J. és Noda, K.: *J. gen. Physiol.* **47**, 117 (1963).
- Phillis, J. W.: In: *Taurine*, ed. by R. Huxtable and A. Barbeau, Raven Press, New York, 209 (1976).
- Phillis, J. W., Tebecis, A. K. és York, D. H.: *Eu. J. Pharmacol.* **4**, 471 (1968).
- Rang, H. P. és Ritchie, J. M.: *J. Physiol.* **196**, 183 (1968).
- Schaefer, A., Seregi, A. és Komlos, M.: *Biochem. Pharmacol.* Vol. **23**, 2257 (1972).
- Schatzmann, H. J.: *Experientia* **22**, 364 (1966).
- Schatzmann, H. J. és Vincenzi, F. F.: *J. Physiol.* **201**, 369 (1969).
- Schwartz, A. és Matsui, H.: In: *Secretory Mechanisms of Salivary Glands*, p. 75, Academic Press, New York (1967).
- Shuba, M. F.: *Sechenov. Physiol. J.* **47**, 109 (1961).
- Skou, J. C.: *Biochem. Biophys. Acta*, **23**, 394 (1957).
- Skou, J. C.: *Biochim. Biophys. Acta*, **42**, 6 (1960).
- Somogyi, J.: *Experientia*, **20**, 28 (1964).
- Starke, K., Endo, T. és Taube, H. D.: *Nature* **254**, 440 (1975).
- Starke, K., Montel, H., Gayk, W. és Merker, R.: *Arch. Pharmacol.* **285**, 133 (1974).
- Taylor, G. S., Paton, D. M. és Daniel, E. E.: *J. gen. Physiol.* **56**, 360 (1970).
- Thomas, R. C.: *J. Physiol.* **201**, 495 (1969).
- Thomas, R. C.: *Physiol. Rev.* **52**, 563 (1972).
- Tobin, R., Akera, T., Baskin, S. I. és Brody, T. M.: *Mol. Pharmacol.* **9**, 336 (1973).
- Tomita, T.: In: *Smooth Muscle*, [Ed. E. Bülbiring,] London: E. Arnold (1970).
- Tomita, T. és Yamamoto, T.: *J. Physiol.* **212**, 857 (1971).
- Török, T., Mika, J. és Gegus, E.: Akadémiai Kiadó, Budapest; Adam Hilger Ltd, Bristol and Crane Russak and Comp., Inc., New York (1978).
- Török, T. L., Victor-Eric, R., Vizi, E. S. és Knoll, J.: *Acta Physiol. Acad. Sci. Hung.* **53**, 130 (1979).
- Török, T. L. és Vizi, E. S.: In: *Progress in Brain Research*. Vol. 49., [Ed. S. Tucke] Elsevier Sci. Publ. Comp. Amsterdam, p. 495 (1979).
- Török, T. L. és Vizi, E. S.: *Acta Physiol. Acad. Sci. Hung.* **55**, 233 (1980).
- Török, T. L., Vizi, E. S. és Knoll, J.: In: *Physiology and Pharmacology of Smooth Muscle*. [Ed. M. Papasova és E. Atanassova,] Bulgarian Academy of Sci. publ., Sofia, 75 (1977).
- Wespi, H. H.: *Pflügers Arch.* **306**, 262 (1969).
- Yoshimura, K.: *Biochem. J.* **74**, 389 (1973).