

AZ AGYI KAPILLÁRISOK PINOCITÓZISÁNAK ÉS MAKROMOLEKULÁRIS TRANSZPORTJÁNAK cAMP-MEDIÁLT SZABÁLYOZÁSA

JOÓ FERENC és IRINA KARNUSHINA

MTA Szegedi Biológiai Központ, Biofizikai Intézet

Molekuláris Neurobiológiai Laboratórium

A szérum fehérjék agyszövetből történő kizárását korábbi vizsgálataink (Joó és CSILLIK 1966, Joó és mtsai 1967, Joó 1968) alapján úgy értelmeztük, mint az agyi kapillárisok egy sajátos impermeabilitásának megnyilvánulását, amely bizonyos hatásokra — legtöbb esetben az endotélsejtek pinocitózisának fokozódásával egyidejűleg — átmenetileg felfüggeszthető. E felismerésből és ennek modern ismeretekkel történő összetevéséből kiindulva fontosnak látszott megvizsgálni, hogy olyan általános bioregulációs mechanizmusok, mint például a plazmamembrán egyik komponensét képező adenil cikláz rendszer (SUTHERLAND és mtsai 1962), szerepet játszik-e, és ha igen, milyet, az agyi kapillárisok pinocitózisának regulálásában. E rendszerről ma már általánosan elfogadott, hogy az adenil cikláz által ATP-ből képzett intermedier, a ciklikus adenzin $3'$, $5'$ -monofoszfát (c-AMP) számos biológiailag aktív anyagnak hozza létre a sejt metabolizmusára irányuló specifikus hatását (BRECKENRIDGE 1970, PASTAN és PERLMAN 1971). Egy másik enzim a foszfodiestراز, a c-AMP lebontása révén szintén befolyásolni képes a c-AMP mennyiségét. Az utóbbi enzimet számos drog bénítja, melyek közül a metilxantinok teofillin, koffein rendelkeznek a legkifejezettebb gátló hatással. E szerek természetes potenciálják mindazon hormonok effektivitását, melyek az adenil cikláz stimulálásán keresztül fejtik ki hatásukat.

Ismeretes, hogy a c-AMP egy lipid-oldékony szubsztituált származékát, a N^6 -O²-dibutiril c-AMP-t (dibu-c-AMP: POSTERNAK és mtsai 1962), mivel a c-AMP-nél lényegesen erősebb biológiai hatással rendelkezik, kiterjedten használják a c-AMP hatások tanulmányozására (HSIE és WALDREN 1970, MASUR és mtsai 1971, SALZMAN és LEVINE 1971). Az intracelluláris c-AMP mennyiségét, és így a c-AMP által kiváltott hatások erősségét, az adenil cikláz stimulálásával (nátrium fluorid: SCHONHOFFER és mtsai 1971) illetve a foszfodiestراز gátlásával (koffein, teofillin: BRECKENRIDGE 1970) is lehet befolyásolni.

Ahhoz, hogy a vér-agy gát permeabilitásának c-AMP mediált szabályozásával kapcsolatban állást foglaljunk, melyet mint munkahipotézist először vetettünk fel az irodalomban, meg kellett vizsgálnunk (i) vajon előidézhető-e változás az agyi erek pinocitózisában és makromolekuláris transzportjában a

c-AMP hatásokat utánzó dibutiril (dibu) c-AMP kezelés után, és (ii) van-e adenil cikláz az agyi kapillárisokban, ha igen, milyen receptor tulajdonsággal rendelkezik.

Vizsgálati anyag és módszer

a) *A dibu-c-AMP*-nak az agyi kapillárisok *pinocitózisára* kifejtett hatását 25 db 20—25 gr súlyú, mindkét nemű egerekben tanulmányoztuk. Kísérleteinkben 0,1 ml fiziológiás sóoldatban egyszeri intraperitonealis injekció formájában adtunk:

10 mg/kg dibu-c-AMP-t (1. csoport, 5 egér)

10 mg/kg koffeint (2. csoport, 5 egér)

12,6 mg/kg nátrium fluoridot (3. csoport, 5 egér)

7,5 mg/kg dibu-c-AMP-t + 10 mg/kg koffeint + 12,5 mg/kg nátrium fluoridot (4. csoport, 5 egér).

A kontroll állatok (5. csoport) csak 0,1 ml oldószert kaptak. Az egereket az injekció után 5 vagy 20 perccel dekapitálással öltük meg. A parietalis cortexből nyert minták feldolgozása után az endotélcitoplazma sejtmagmentes részleiről, válogatás nélkül, nagyfelbontású (30 000-szeres eredeti nagyítású) elektronmikroszkópos felvételeket készítettünk. Az endotélcitoplazma területét planiméterrel megmértük, majd meghatároztuk a luminális és abluminális felszínnel direkt membrán-kapcsolatban levő, és a citoplazmában szabadon található pinocitotikus és tüskés vezikulák számát, és azokat — mind a kísérletes, mind a kontroll csoportokban — az endotélcitoplazma $1 \mu^2$ területére vonatkoztattuk. A kísérletes csoportokban kapott egységnyi endotélcitoplazmára kifejezett vezikulaszámokat a Student-féle t-teszt alkalmazásával hasonlítottuk a kontrollhoz.

b) *A dibu-c-AMP*-nak az agyi kapillárisok permeabilitására kifejtett hatását 10 db 40—50 napos, nőtény Wistar törzsből származó patkányon végeztük. Az állatokat 10 mg/kg dózisban egyszeri i.p. injekció formájában kezeltük. Az állatok a kezelés után 15 perccel 0,1 ml kadmium-mentes ferritint kaptak i.v. A ferritin megoszlását elektronmikroszkóppal már egyik korábbi kísérletünkben (Joó és mtsai 1969) is vizsgáltuk. Már akkor úgy találtuk, hogy a kisméretű (100 Å) ferritin szemcsék azonosítása az ödémás glianyúlványokban olykor nehézséget okoz. Úgy gondoltuk, hogy a permeabilitási markerként használt ferritin — vastartalma révén — esetleg Rtg-sugár mikroanalízissel is lokalizálható. Ismeretes, hogy az Rtg-sugárzásra gerjeszthető elemek elektronmikroszkópos lokalizálása a gyakorlatban két módon történhet: (i) konvencionális transzmissziós üzemmódban (CTEM, itt a legkisebb analizálható folt átmérője 1μ), és (ii) transzmissziós scanning üzemmódban (JEM-ASID, ahol a legkisebb analizálható terület átmérője 200 Å). A kapilláris lumenéről és egy gliatalpról mindkét üzemmódban készítettünk spektrumokat.

c) *Az adenil cikláz mikroszkópos lokalizálására irányuló kísérleteinkben* 20 db mindkét nemből származó, felnőtt Wistar patkányt dolgoztunk fel. Az állatokat 4%-os, nátrium kakodiláttal pufferolt paraformaldehid oldattal perfundáltuk 50 percig. 50 μ vastag metszeteket Vibratom^R-rel készítettünk. Az adenil cikláz hisztokémiai kimutatását a REIK és mtsai (1970) által leírt módszer szerint végeztük. Szubsztrátként egy új, erősen specifikus anyagot, az 5-adenilil-imidodifoszfátot használtuk. A metszeteket 37 °C-on 30 és 60 percig inkubáltuk. A fénymikroszkópos vizsgálatra ecetsavval neutralizált nátrium szulfidos kezelést, az elektronmikroszkópos feldolgozás előtt s-collidinnel pufferolt ozmium utórögzítést végeztünk (1 óra, + 4 °C). Az enzimaktivitás specificitásának megállapítása céljából inkubálást végeztünk (i) szubsztrát nélkül, (ii) szubsztrát analóggal (ADP, AMP, TPP és Na- β -glicerofoszfát) és (iii) 5 mM-os alloxán jelenlétében, melyről kimutatták (COHEN és BITENSKY 1969), hogy szelektíve bénítja az adenil cikláz, mialatt más membrán ATP-ázok működésüket megtartják.

d) *Az agyi kapillárisok izolálására kidolgozott módszer leírása*

A kapillárisok izolálását célzó előkísérleteinkben megállapítottuk, hogy e struktúrák súlyosan károsodnak az agyszövet üveghomogenizátorban történő eldörzsölése során, és emiatt további dúsításukra nincs lehetőség. SELLINGER és mtsai (1971) a homogenizálási folyamat lényeges módosításával új módszert dolgoztak ki az ideg- és gliasejtek kíméletes izolálására. E módszert követve patkány agykérgéből készített vagdaléket, melyet a pia matertől és a fehérállománytól előzetesen hidegszobában megtisztítottunk, 333 μ és 110 μ pórus-nagyságú nylon-szöveten átnyomtuk. Azt találtuk, hogy a kapillárisok többsége 500—150 μ hosszú, fénymikroszkóposan intaktnak tűnő hálózat formájában van jelen a patkányagyból készített szuszpenzióban (1.ábra). Előkísérleteink után, SELLINGER és mtsai (1971) tapasztalatait felhasználva, a szeparálás szempontjából legalkalmasabb centrifugálási menetet dolgoztuk ki. Számos próbálkozás után megállapítottuk, hogy a kapillárisok dúsítására a viszonylag magas molaritású szukróz oldatokból készített gradiensek használhatók. Ahhoz, hogy biokémiai meghatározásokra is elegendő mennyiségben kapjunk anyagot, egy kísérletben 10 patkány (e vizsgálatssorozatunkban összesen 150 patkány) agykérgét használtuk fel.

A kiinduló szuszpenziót, valamint mindegyik frakciót fény- és elektronmikroszkóp segítségével ellenőriztük, továbbá egyes frakciók kapilláris tartalmát kvantitatíve is meghatároztuk. A homogenizálás és a centrifugálás menetének részleteit korábban közöltük (JOÓ és KARNUSHINA 1973). A sűrűséggradiensből származó csíkokat szeparáltuk, majd mindegyiket külön újra lecentrifugáltuk. Az így nyert üledékeket két alternatív úton kezeltük: (i) Karnovsky-oldatban történt immerziós fixálás után feltüntettük a kapillárisok nem specifikus alkalikus foszfatáz aktivitását, vagy (ii) elektronmikroszkópos vizsgálatra dolgoztuk fel. A dúsulás mértékét úgy fejeztük ki, hogy egy tér-

képészeti mérővel meghatároztuk a kapillárisok összhosszát olyan felvételeken, melyeket Gömöri-módszerrel festett metszetekről készítettünk. A kapillárisok összhosszát mm-ben megadva mindegyik analizált felvétel 1 mm²-re fejeztük ki, majd a kapott adatokat a Student-féle kettős *t*-teszt segítségével értékeltük. Az adatokat az 1. táblázatban összegeztük.

1. táblázat

A kapillárisok megoszlása a különböző frakciók üledékének metszeteiben

	A kiinduló szuszpenzióban	B frakcióban	C frakcióban	D frakcióban
A meghatározások száma	18	24	19	19
Az üledék 1 mm ² -re vonatkoztatott kapilláris hossz (átlag $\pm$ S.S.)	4,1 $\pm$ 1,0	0,5 $\pm$ 0,4	3,4 $\pm$ 1,0	46,7 $\pm$ 1,9
P érték		< 0,001		< 0,001

A dúsítás eredményeként a D frakcióban tízszer több kapillárist találtunk mint a kiinduló szuszpenzióban. A kapilláris-dús frakcióban levő hajszálerek, a preparatív eljárás kíméletességét bizonyítván, nagymértékben megőrizték integritásukat (2. ábra). Az endotélsejtek, valamint a bazális membrán finomszerkezeti megjelenése alig mutat eltérést a kapillárisok ép ultrastrukturális jellegzetességeitől.

e) A kiinduló szuszpenzió és az ultracentrifugálással izolált *kapilláris-dús frakciók adenil cikláz aktivitását* a DRUMMOND és DUNCAN (1970) által használt módszerrel határoztuk meg. A mintákat meghatározás előtt Potter készülékben kézzel homogenizáltuk. Ismeretes, hogy az adenil cikláz és a c-AMP a keringő vér alakos elemeiben számos, elsősorban a gyulladással és az immunitással kapcsolatos celluláris folyamat szabályozásában vesz részt (SALZMAN és LEVINE 1971, BOURNE és mtsai 1974). Saját vizsgálatunkban, amely a kapilláris adenil cikláz tulajdonságainak megismerésére irányult, a kísérleti állatok (80 db 40—50 napos, nőstény Wistar patkány) agyát a szuszpenzió előkészítése előtt fiziológiás sóoldatnak az aortán át történő perfúziójával éter narkózisban tökéletesen vértelenítettük.

Eredmények

Hatás a pinocitózisra

A kontroll állatok agyi kapillárisaiban csak elvétve találtunk a lumenből lefűződő vagy a bazális membránba nyíló pinocitotikus vezikulát. A dibu-c-AMP kezelést követően azonban számos mikrovezikulát figyeztünk meg az

endotélcitoplazmában. Kombinált kezelése után az élénk pinocitotikus tevékenység mellett vakuolumok is megjelentek az endotélcitoplazmában. Ugyanakkor a sejtkapcsoló struktúrák nem nyíltak meg. A bazális membrán megvastagodását és sajátos nyúlványképződését szintén megfigyeltük.

A pinocitotikus vezikulák megoszlásának kvantitatív kiértékelésének eredményeit a 2. táblázat összegzi.

Hatás a permeabilitásra

Dibu-c-AMP kezelés után a kapillárisok pinocitózisának fokozódásán kívül (3. ábra) a makromolekuláris transzportot is meg sikerült figyelünk. A 6,4 keV-nál $K\alpha_{12}$ és 7,0 keV-nál $K\beta_1$ jelentkező, vasra jellemző csúcsokat nemcsak a kapilláris lumenében (4. ábra), hanem a megduzzadt glia-talpakban (5. ábra) is lokalizálni tudtunk.

Az adenil cikláz hisztokémiai lokalizációja patkány agykéregben

Vizsgálatainkban a kapillárisfal erős adenil cikláz aktivitását találtuk (Joó és mtsai 1975b). Az ólomtartalmú, erősen elektrondenz reakcióvégtértermék rövidebb (5—10 perc) inkubálás esetén csak a bazális membránban (6. ábra), hosszabb inkubálás után (30—60 perc) az endotélsejtek lúminális membránjához kötötten is megjelent (7. ábra). Erős adenil cikláz aktivitást figyeltünk meg az astrocytak felszíni membránjában is (8. ábra). Mindhárom kontroll kísérlet elektronmikroszkópos szinten is igazolta a reakció magas specificitását. A szubsztrát nélkül inkubált metszet elektronmikroszkópos képét mutatja a 9. ábra.

A kapillárisokban lokalizálódó adenil cikláz néhány vonása

Az adenil cikláz meghatározás azt mutatta, hogy a *kiinduló szuszpenzió* alapaktivitása (négy mérési adat átlagolása után):

$$1387 \pm 331 \text{ pM/mg fehérje 5 perc}$$

Ezzel szemben a *kapilláris-dús frakció* alapaktivitása (szintén négy mérési adat átlagolása után):

$$10\,245 \pm 994 \text{ pM/mg fehérje 5 perc.}$$

A kapilláris adenil cikláz receptor tulajdonságának meghatározására noradrenalin és hisztamin végzettünk kezelést. A noradrenalin nem, a hisztamin viszont igen nagy hígításokban is erősen fokozta a kapilláris adenil cikláz aktivitást. Az agyi kapillárisokban felfedett hisztamin receptor típusának meghatározására a biokémiai meghatározás specifikus gátlószerek alkalmazása révén lehetőséget nyújt. Farmakológiai kísérletekből ismeretes ugyanis, hogy bizonyos hisztamin hatások, melyek mepiraminnal nem védhetők ki,

2. táblázat

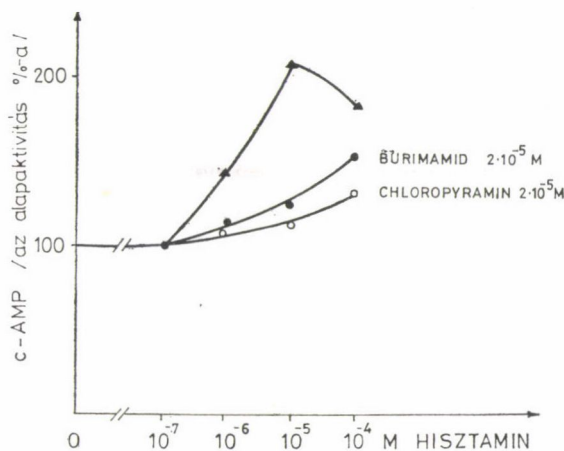
Az endotélsejtek mikrovezikuláinak számváltozása agyi kapillárisokban
dibu-c-AMP kezelés után parietalis cortexben

A parietalis cortex kapillárisainak $1 \mu^2$ endotélcitoplazmájában	pvb	pv	pvk	tb	t	tk	ö	v	m vb
Kontroll n = 26 átlag $\pm$ S.E.M.	—	6,32 $\pm$ 0,80	0,36 $\pm$ 0,07	—	0,38 $\pm$ 0,06	—	6,50 $\pm$ 0,95	2,23 $\pm$ 0,71	0,38 $\pm$ 0,18
5 perc dibu-c-AMP n = 18 átlag $\pm$ S.E.M.	—	16,55 $\pm$ 2,85	5,13 $\pm$ 1,67	0,17 $\pm$ 0,11	1,26 $\pm$ 0,39	0,28 $\pm$ 0,18	24,17 $\pm$ 1,22	1,04 $\pm$ 0,37	—
P-érték (Student-féle kettős t-próba)	—	> 0,4	> 0,4	—	> 0,25	—	< 0,001	—	—
20 perc dibu-c-AMP n = 11 átlag $\pm$ S.E.M.	—	19,61 $\pm$ 4,33	5,20 $\pm$ 1,46	0,66 $\pm$ 0,35	1,20 $\pm$ 0,56	—	26,69 $\pm$ 4,59	0,9 $\pm$ 0,60	—
P-érték (Student-féle kettős t-próba)	—	< 0,001	< 0,001	> 0,25	< 0,001	< 0,05	< 0,001	< 0,001	—

Ábramagyarázat: pvb = az endotélsejt luminális membránjáról lefűződő pinocitotikus vezikulák száma; pv = az endotélsejt citoplazmájában levő pinocitotikus vezikulák száma; pvk = a bazális membránba nyíló vezikulák száma; tb = a lefűződő tüskés vezikulák száma; t = tüskés vezikulák száma; tk = a bazális membránba nyíló tüskés vezikulák száma; ö = az összes vezikula száma; v = vezikulák száma; m vb = multivezikuláris testek száma.

burimamiddal megszüntethetők. E vizsgálatok a hisztamin hatását H_1 és H_2 receptoron keresztül értelmezték (BLACK és mtsai 1972, BARBEZAT és mtsai 1974, GRENNAN és mtsai 1974). Az agyi kapilláris-frakció hisztamin által aktivált adenil cikláz aktivitásának gátlását a 10. ábra összegzi.

Az eredményekből egyértelműen megállapítható, hogy a kapilláris-dús frakcióban H_1 és H_2 receptorok egyaránt megtalálhatók (Joó és mtsai 1975a).



10. ábra. Az agyi kapillárisfrakció hisztamin által aktivált adenil cikláz aktivitásának gátlása

Az eredmények megbeszélése

Most ismertetett eredményeink, melyek bizonyos részleteit előzetes közleményben megjelentettük (Joó 1972), azt sugallják, hogy a c-AMP hatását utánzó dibu-c-AMP kezelés nagymértékben képes fokozni az endotélsejtek, egyébként gyenge, pinocitotikus tevékenységét. Az indukált pinocitózis mértéke, a kontroll és az experimentális csoportok össz-vezikulaszámának ismeretében, kifejezhető és összehasonlítható a diafragma kapillárisaiban (BRUNS és PALADE 1968) illetve a nyirokkapillárisok endotéliumában (CASLEY—SMITH 1969) korábban meghatározott vezikulaszám értékekkel. Az összevetésből kiderül, hogy az agyi kapillárisokban dibu-c-AMP kezeléssel kiváltott pinocitózis, az össz-vezikulaszámok alapján ítélve, 1/4-e lehet annak a pinocitózisnak, amely az intenzív makromolekuláris transzporttal rendelkező kapillárisokban élettani feltételek mellett működik. Észlelésünk valós voltát nagyban támogatják azok az irodalmi adatok (MASUR és mtsai 1970, 1971), melyek a c-AMP által indukált pinocitózist más szövetekben is feltárták. Ezen túlmenően, PARK és mtsai (1971) emberi leukocitákban talált összefüggést a c-AMP koncentrációja és a leukociták fagocitózisa között. Habár BOWERS (1970) munkáiból ismeretes, hogy a pinocitózis és a fagocitózis a felszíni membrán aktivitásának elválaszt-

ható megnyilatkozásai, mégis úgy tűnik, hogy a c-AMP aktív szerepet tölt be mindkét, az intracelluláris membránforgalom szempontjából jelentős folyamat regulálásában.

A Rtg-sugár spektroszkópos vizsgálat, azon kívül, hogy az erek permeabilitásának megítélésére egy új módszert kínál, egyértelműen bizonyította a dibu-c-AMP hatékonyságát az agyi kapillárisok makromolekuláris transzportjára.

Az 5'-adenilil-imidodifoszfát alkalmazása az adenil cikláz kimutatás számára igen előnyösnek bizonyult, mivel e szubsztrátot más membrán ATP-ázok nem bontják el (ROBDELL és mtsai 1971, YOUNT és mtsai 1971, és MAGUIRE és GILMAN 1974). Adenilil-imidodifoszfátot az adenil cikláz mikroszkópos lokalizálására WAGNER és mtsai (1972), valamint WOLLENBERGER és mtsai (1973) használták először.

A kapilláris-dús frakcióban észlelt, közel tízszeres adenil cikláz aktivitás jó megegyezést mutatott a dúsulás mértékét kifejező hisztokémiai vizsgálatunk eredményeivel.

A kapillárisok hormon-szenzitív adenil cikláz aktivitását korábban zsírszövetben (WAGNER és mtsai 1972) és szívizomban (WOLLENBERGER és mtsai 1973) mutatták ki. Az enzim a pinocitotikus vezikulákban lokalizálódott. A zsírszövet kapillárisainak adenil cikláz aktivitását noradrenalin, a szívizom hajszálereinek enzimaktivitását — az agy kapillárisaihoz hasonlóan — hisztamin fokozta. A H_1 és H_2 receptorok általános jelenlétét az érrendszerben az utóbbi években megjelent farmakológiai vizsgálatok eredményei egyértelműen bizonyítják. BLACK és mtsai (1972) a subcutis kapillárisaiban, FLYNN és OWEN (1974) a macska hátsó végtagjának ereiben tárta fel a hisztamin receptorok jelenlétét. BRIMBLE és WALLIS (1973) a szimpatikus ganglionban azt is megfigyelte, hogy a hisztamin a körülményektől függően a neurohumorális transzmisszió fokozására vagy csökkentésére egyaránt képes. Az agyi kapillárisok esetében, ahol a hisztamin permeabilitást fokozó hatását farmakológiai kísérletekben már régen bizonyították (HURST és DAVIES 1950, FÖLDES és KELENTEI 1954), szintén elképzelhető, hogy a H_1 és H_2 receptorok ellentétes hatás kifejlődéséhez vezethetnek. Meg kell jegyeznünk, hogy szövettényészetben hisztamin aktivált adenil cikláz az asztrocitákban is kimutattak (CLARK és PERKINS 1971). Az asztrociták hisztamin-érzékeny adenil cikláz aktivitásának receptor tulajdonságát azonban ez ideig nem határozták meg. Emiatt a H_1 és H_2 receptorok pontos lokalizációjának és élettani hatásainak feltárására további vizsgálatok szükségesek. A kapilláris adenil cikláz élettani működésére vonatkozóan az már most megállapítható, hogy az enzim fontos szerepet játszik a hisztamin hatások mediálásában. A hisztamin — ami a retikulo-endotéliális rendszer élettani aktivátora (JANCSÓ 1947) — a keringő vér alakos elemeiben, valamint a szöveti hízósejtekben egyaránt magas koncentrációban található (BOURNE és mtsai 1974). Nagyon valószínű, hogy a kapillárisfalra az élettani

működések során, és bizonyos kóros állapotokban különböző erősségű hisztamin hatás érvényesül. Ennek eredménye az adenil cikláz aktivitás fokozódásán keresztül az agyi kapillárisok pinocitózisának és makromolekuláris transzportjának fokozására.

Általános következtetés

A sejtmembrán meglehetősen komplex molekuláris organizációja (FERNANDEZ—MORÁN 1962, HÁMORI 1968, RÖHLICH 1968, VIRÁGH 1968, SINGER és NICOLSON 1972) mint ismeretes, a legszorosabb összhangban van a membránok sok irányú funkciójával.

Mint korábban láttuk, az agyi kapillárisok endotélsejtjei, az embrionális fejlődés bizonyos szakaszainak kivételével, igen alacsony pinocitotikus aktivitással rendelkeznek élettani feltételek mellett. Az a tény, hogy bizonyos anyagok nem képesek az agyszövetbe jutni valószínű, hogy az agyi kapillárisok kisfokú pinocitózisával van kapcsolatban (REESE és KARNOVSKY 1967).

Az a felismerésünk, miszerint a pinocitózis — és a kiváltott permeabilitás-fokozódás — cAMP felszabadulás következtében, illetve a felszabadult cAMP közvetítésével is kialakulhat az agyi kapillárisokban, számos, korábban csak hiányosan értelmezhető kísérleti adatot helyez új megvilágításba. Biokémiai vizsgálatokból ismeretes, hogy a membránokban jelen levő adenil cikláz több fontos komponensből áll, melyek közül a receptor-szabályozó és katalitikus alegység különleges jelentőséggel bír. Az enzim katalitikus alegysége normális feltételek mellett gátolva van. A *specifikus hormonhatások* a rendszer *receptor-alegységén* keresztül érvényesülnek, míg bizonyos *nem-specifikus hatások*, úgy mint a NaF és bizonyos detergenssek melyek a makromolekula szerkezetét károsítják, a *katalitikus alegység gátlásának megszűnése miatt* hozzák létre az enzim aktiválását (PERKINS és MOORE 1971).

Mindezek ismeretében azt feltételezzük, hogy az agyi kapillárisok adenil cikláz rendszere is igen érzékenyen, aktivitását a beavatkozás természetétől és annak erősségétől függően fokozva vagy éppen csökkentve, reagálhat különböző eredetű kísérletes vagy kóros beavatkozásokra.

Az adenil cikláz-cAMP-rendszer és a vér-agy gát permeabilitásának szabályozása közötti közvetlen kapcsolat felismerése az agy patológiai állapotaiban kifejlődő vér-agy gát sérülés értelmezésében egy új, véleményünk szerint fontos szempontot vet fel. A H_2 receptoroknak az agyi kapillárisokban történő jelenléte, a fentiekén kívül, a H_2 receptor bénítók terápiás alkalmazását is megfontolás tárgyává teszi bizonyos agyödémák klinikai kezelésében.

IRODALOM

1. BARBEZAT, G. O., DANIEL, M., BANK, S., GRANT, B. and VINIK, A.: Effect of histamine receptor blockade on fasting serum gastrin and fasting gastric acid secretion in the dog. *Nature* **249**, 666–668 (1974).
2. BLACK, J. W., DUNCAN, W. A. M., DURANT, C. J., GANELLIN, C. R. and PARSONS, E. M.: Definition and antagonism of histamine H_2 -receptors. *Nature* **236**, 385–390 (1972).
3. BOURNE, H. R., LICHTENSTEIN, L. M., MELMON, K. L., HENNEY, C. S., WEINSTEIN, Y. and SHEARER, G. M.: Modulation of inflammation and immunity by cyclic AMP. *Science* **184**, 19–27 (1974).
4. BOWERS, B.: Dissociation of pinocytosis and phagocytosis in *Acanthamoeba*. *J. Cell Biol.* **47/2**, 23A (1970).
5. BRECKENRIDGE, B. MCL.: Cyclic AMP and drug action. *Annual Rev. of Pharmacology* **10**, 19–34 (1970).
6. BRIMBLE, M. J. and WALLIS, D. I.: (1973) Histamine H_1 and H_2 -receptors at a ganglionic synapse. *Nature* **246**, 156–158.
7. BRUNS, R. R. and PALADE, G. E.: Studies on blood capillaries II. Transport of ferritin molecules across the wall of muscle capillaries. *J. Cell Biol.* **37**, 277–299 (1968).
8. CASLEY-SMITH, J. R. The dimensions and numbers of small vesicles in cells, endothelial and mesothelial and the significance of these for endothelial permeability. *J. Microscopy* **90**, 251–269 (1969).
9. CLARK, R. B. and PERKINS, J. P.: Regulation of adenosine 3' : 5'-cyclic monophosphate concentration in cultured human astrocytoma cells by catecholamines and histamine. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* **68**, 2757–2760 (1971).
10. DRUMMOND, G. I. and DUNCAN, L.: Adenyl cyclase in cardiac tissue. *J. Biol. Chem.* **245**, 976–983 (1970).
11. FERNANDEZ-MORÁN, H.: Cell-membrane ultrastructure. Low-temperature electron microscopy and X-ray diffraction studies of lipoprotein components in lamellar systems. *Circulation* **26**, 1039–1065 (1962).
12. FLYNN, S. B. and OWEN, D. A. A.: Vascular histamine receptors in the cat. *Proc. of the B.P. S.* **122 P** (1974).
13. FÖLDES, I. and KELENTEI, B.: Studies on the haemato-encephalic barrier. II. The effects of histamine with special reference to the passage of antibiotics. *Acta Physiol. Acad. Sci. Hung.* **5**, 149–162 (1954).
14. GRENNAN, D. M., ROONEY, P. J., GILBERTSON, E. and DICK, C.: H_2 -receptors in peripheral blood vessels. *Nature* **249**, 368–370 (1974).
15. HAMBERGER, A., HAMBERGER, B.: Uptake of catecholamines and penetration of trypan blue after blood-brain barrier lesions. *Z. Zellforsch.* **70**, 386–392 (1966).
16. HÁMORI, J.: Ingerületvezető és ingerületátadó membránspecializációk. *MTA. Biol. Oszt. Közl.* **11**, 339–355 (1968).
17. HURST, E. W., DAVIES, O. L.: Studies on blood-brain barrier; attempts to influence passage of substances into brain. *Brit. J. Pharmacol.* **5**, 147–164 (1950).
18. HSIE, A. W. and WALDREN, C. A.: Conversion of Chinese hamster cells to fibroblastic form by dibutyl-adenosine-3',5'-cyclic monophosphate. *J. Cell Biol.* **47/2**, 92A (1970).
19. JANCsó, M.: Histamine as a physiological activator of the reticulo-endothelial system. *Nature* **160**, 227–228 (1947).
20. Joó, F.: The effect of the inhibition of adenosinetriphosphatase activity on the fine structural organization of the brain capillaries. *Nature* **219**, 1378–1379.
21. Joó, F.: Effect of N^6O^2 -dibutyl cyclic 3', 5'-adenosine monophosphate on the pinocytosis of brain capillaries of mice. *Experientia* **28**, 1470 (1972).
22. Joó, F., CSILLIK, B.: Topographic correlation between the hematoencephalic barrier and the cholinesterase activity of brain capillaries. *Exp. Brain Res.* **1**, 147–151 (1966).
23. Joó, F. and KARNUSHINA, I.: A procedure for the isolation of capillaries from rat brain. *Cytobios.* **8**, 41–48 (1973).
24. Joó, F., RAKONCZAY Z. and WOLLEMAN, M.: cAMP-mediated regulation of the permeability in the brain capillaries. *Experientia* **31**, 582–584. (1975a).
25. Joó, F. TAKÁCS, Ö., VARGA, L., DOMJÁN, G., BÖRCSÖK Ethel, ROTT Susan, ROSTA Margit, ZOLTÁN, Ö. T., CSILLIK, B. and FÖLDI M.: Collapse of the blood-brain barrier in lymphostatic cerebral hemangiopathy and in triethyltin poisoning. *Med. Exp.* **19**, 342–350 (1969).
26. Joó, F. TÓTH, I. and JANCsó, G. Brain adenylate cyclase: its common occurrence in the capillaries and astrocytes. *Die Naturwissenschaften*, **62**, 397–398 (1975b).

27. JOÓ, F., VÁRKONYI, T., CSILLIK, B.: Developmental alterations in the histochemical structures of brain capillaries: a histochemical contribution to the problem of the blood-brain barrier. *Histochemia* **9**, 140—148 (1967).
28. MAGUIRE, M. F. and GILMAN, A. G.: Adenylate cyclase assay with adenylyl imidodiphosphate and product detection by competitive protein binding. *Biochim. Biophys. Acta* **358**, 154—163.
29. MASUR, S. K., HOLZMAN, E. and WALTER, R.: Induction of pinocytosis in toad urinary bladder by neuro-hypophyseal hormone and cyclic AMP. *J. Cell Biol.* **47/2**, 131A (1970).
30. MASUR, S. K., HOLZMAN, E., SCHWARTZ, I. L. and WALTER, R.: Correlation between pinocytosis and hydroosmosis induced by neurohypophyseal hormones and by adenosine 3',5'-cyclic monophosphate. *J. Cell Biol.* **49**, 582—594 (1971).
31. PASTAN, I. and PERLMAN, R. L.: Cyclic AMP in metabolism. *Nature New Biol.* **229**, 5—7 (1971).
32. PARK, B. H., GOOD, R. A., BECK, N. P. and DAVIS, B. B.: Concentration of cyclic adenosine 3',5'-monophosphate in human leucocytes during phagocytosis. *Nature New Biology* **229**, 27—28 (1971).
33. PERKINS, J. P. and MOORE, M.—M.: Adenyl cyclase of rat cerebral cortex. Activation by sodium fluoride and detergents. *J. Biol. Chem.* **246**, 62—68 (1971).
34. REESE, T. S., KARNOVSKY, M. J.: Fine structural localization of a blood-brain barrier to exogenous peroxidase. *J. Cell Biol.* **34**, 207—217 (1967).
35. REIK, L., PETZOLD, G. L., HIGGINS, J. A., GREENGARD, P. and BARNETT, R. J.: Hormone-sensitive adenyl cyclase: cytochemical localization in rat liver. *Science* **168**, 382—384 (1970).
36. RODBELL, M., BIRNBAUMER, L., PHL, S. L. and KRANS, H. N.: The glucagon-sensitive adenyl cyclase system in plasma membranes of rat liver. V. An obligatory role of guanyl nucleotides in glucagon action. *J. Biol. Chem.* **246**, 1877—1882 (1971).
37. RÖHLICH, P. A membránszerkezet problémái. MTA. Biol. Oszt. Közl. **11**, 151—178 (1968).
38. SALZMAN, E. W. and LEVINE, L.: Cyclic 3',5'-adenosine monophosphate in human, blood platelets. II. Effect of N⁶-2-O-dibutyl cyclic 3',5'-adenosine monophosphate on platelet function. *J. Clinical Investigation* **50**, 131—141 (1971).
39. SCHONHOFFER, P. S., SKIDMORE, I. F., FORN, J. and FLEISCH, J. A.: Adenyl cyclase activity of rabbit aorta. *J. Pharm. Pharmacol.* **23**, 28—31 (1971).
40. SELLINGER, O. Z., AZCURRA, J. M., JOHNSON, D. E., ÖHLSSON, W. G. and LODIN, Z.: Independence of protein synthesis and drug uptake in nerve cell bodies and glial cells isolated by a new technique. *Nature New Biology* **230**, 253—256 (1971).
41. SINGER, S. J. and NICOLSON, G. L.: The fluid mosaic model of the structure of cell membranes. *Science* **175**, 710—731 (1972).
42. SUTHERLAND, E. W., RALL, T. W. and MENON, T.: Adenyl cyclase. I. Distribution, preparation, and properties. *J. Biol. Chem.* **237**, 1220—1227 (1962).
43. YOUNT, R. G., BABCOCK, D., BALLANTYNE, W. and OHALA, D.: Adenylyl imidodiphosphate, an adenosine triphosphate analog containing a P-N-P linkage. *Biochemistry* **10**, 2484—2489 (1971).
44. VIRÁGH, Sz.: A sejtkapcsoló struktúrák funkcionális morfológiája. MTA. Biol. Oszt. Közl. **11**, 327—337 (1968).
45. WAGNER, R. C., KREINER, P., BARNETT, R. J. and BITENSKY, M. W.: Biochemical characterization and cytochemical localization of catecholamine-sensitive adenylate cyclase in isolated capillary endothelium. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* **69**, 3175—3179 (1972).
46. WOLLENBERGER, A., SCHULZE, W. and KRAUSE, E. G.: Cytochemical examination of the effect of histamine on adenylate cyclase activity in guinea pig heart tissue. *J. Molecular and Cellular Cardiology* **5**, 427—421 (1973).