

# AZ INTERNEURONÁLIS ÁTTEVŐDÉS KÉMIAJA

WOLLEMANN MÁRIA

Biokémiai Intézet, MTA. Biológiai Központ, Szeged

Az interneuronális áttevődés kémiája a fiziológiai és farmakológiai kutatásokhoz képest nem hosszú múltra tekinthet vissza. Ennek egyik oka, hogy sokáig kizárólag az elektromos ingerátvitelnek tulajdonítottak jelentőséget a transzmisszióban (ERLANGER 1939, GRUNDFEST 1955). Az 1950-es években elsősorban NACHMANSOHN (1959) és FELDBERG (1950) képviselték a legharcosabban, több-kevesebb sikerrel a kémiai ingerátvitel teóriáját. Az elméletet azonban később mégis főleg elektrofiziológiai módszerek segítségével igazolták ECCLES (1957) és CURTIS (1961) úgy, hogy a feltételezett mediátort mikrokapillárison keresztül az idegsejtbe juttatták, és mérték a bekövetkező potenciálváltozásokat. Ezzel körülbelül egy időben új biokémiai (szaharóz gradiensben történő ultracentrifugálás, WHITTAKER (1959) és DE ROBERTIS (1962) és morfológiai (elektronmikroszkópos felvételek) módszerek születtek a szinaptikus ingerátvitel tanulmányozására.

Minden módszernek, így a sejtpartikulumok ultracentrifugálással történő szétválasztásának is megvannak a maga előnyei és hátrányai. Előnye, hogy az idegvégződés vizsgálatánál izoláltan vizsgálhatók a sejt többi részétől — hátránya, hogy tulajdonképpen mesterséges képződményről van szó. Ennek ellenére a most már mintegy tizenöt éve folyó kutatások számos értékes eredményhez vezettek, melyek közül itt csak néhány általánosabb érdeklődésre igényt tartó eredményt szeretnék kiemelni, a részletekre vonatkozóan pedig csak az irodalomban megjelent számos összefoglaló közleményre szeretnék hivatkozni (WHITTAKER 1973, DE ROBERTIS és mtsai 1969, BALDESSARINI 1973, BLOOM 1972, WOLLEMANN 1970).

## *A szinaptoszómák biokémiai sajátosságai*

A szinaptoszómák általános tulajdonságai közül kiemelhető, hogy bennük a transzmitterek szabad és kötött (raktározott) formában vannak jelen. A rak-

### Rövidítések:

GABA = gamma-aminovajsav  
c-AMP = 3',5'-ciklikus adenilsav  
c-GMP = 3',5' ciklikus guanilsav  
LSD = lizergsavdietilamid

ATP = adenzintrifoszfát  
GTP = guanozintrifoszfát  
DCI = diklórizoproterenol

tározás külön hólyagocskákban a szinaptikus vezikulumokban történik. Ezek nem műtermékek, elektronmikroszkóppal is kimutathatók, különböző módszerekkel a szinaptoszómákból kiszabadíthatók és tovább tisztíthatók (WHITTAKER és mtsai 1971, KIRSCHNER 1966). A szinaptikus vezikulumokban a transzmitterek általában specifikus fehérjékhez kötve (vezikulin-acetilkolin, kromogranin-katekolamin, WHITTAKER és mtsai 1971, KIRSCHNER és mtsai 1971) vannak jelen. Jellemző még a vezikulumokra ATP és  $Mg^{++}$  tartalmuk mely egyes szerzők szerint (KIRSCHNER és mtsai 1966) szintén a transzmitter megkötését szolgálják, mások szerint a  $Mg^{++}$ , vagy  $Ca^{++}$  dependens ATPáz működésén keresztül a vezikulumokból történő transzmitter felszabadításában játszanak szerepet, míg a  $Na^+$ ,  $K^+$  dependens ATPáznak a szinaptoszóma membránokban tulajdonítanak hasonló szerepet (BERL és mtsai 1973, WHITE és mtsai 1971, VIZY 1972).

A szinaptikus vezikulumokban a transzmittereket szintetizáló enzimek közül egyedül a dopamin- $\beta$ -hidroxiláz jelenléte bizonyított egyértelműen. Az enzim dopaminból noradrenalin szintetizál és a transzmitterrel együtt szabadul fel, amit egyben az exocitózis egyik bizonyítékának tekintenek (KIRSCHNER és mtsai 1971).

Számos közlemény foglalkozik még a szinaptoszómák, ill. a vezikulumok transzmittereinek felvételével, illetve a szintézisükhöz szükséges anyagok felvételével. Itt különbséget kell tenni az acetilkolin és a többi biogén amin között, mivel az acetilkolin gyors bomlása miatt a szinaptoszómába csak kolin-felvétel történik, míg a többi biogén amin, a noradrenalin, dopamin, de a szerotonin is kb. 60%-ban visszakerül az idegvégződésbe (IVERSEN 1967, SNYDER és mtsai 1970). A felvételre jellemző, hogy egy része passzív diffúzió útján történik, más része azonban aktív, koncentráció grádienssel szemben következik be. Az aktív, energia-dependens transzport pontos mechanizmusa ma még nem ismert.

### *Újabb transzmitterek kutatása*

A biogén aminok mellett ma már az újabb transzmitterek kutatása mindinkább az aminosavak és peptidok, sőt bizonyos esetekben a telítetlen zsírsavak felé irányul. Újabban lineáris szaharóz sűrűségi grádienssel és cézium-kloridos zónális ultracentrifugálással (KORNGUTH és mtsai 1971, WOFSEY és mtsai 1971, GFELLER 1971) sikerült szétválasztani a különböző biogén aminokat és aminosavakat szelektíven felvevő szinaptoszómákat egymástól. A vizsgálatokat agykéregben, kisagyban és corpus striatumban végezték tengerimalacokon és patkányokon jelzett transzmitterekkel és aminosavakkal. A legkönnyebb frakcióban helyezkedett el a GABA, utána sorrendben a glutaminsav és az aszparaginsav. A többi 14 vizsgált aminosav nem mutatott különbséget a grádiens megoszlásban (alanin, glicin, valin, leucin, treonin, szerint ornitin,

lizin, arginin, prolin, fenilalanin, triptofán, hisztidin és tirozin), míg a hisztamin, noradrenalin és szerotonin ismét elkülönült egymástól, úgy, hogy a szerotonin volt a legnehezebb frakcióban (WOFSEY és mtsai 1971). A szerzők egyöntetűen felvetik az elkülönített szinaptoszomális frakciók jelentőségét a neurotranszmisszióban és az aminosavak közül a GABA-nak, glutaminsavnak és aszparaginsavnak transzmitter szerepet tulajdonítanak. A gerincvelőben a glicin szelektív felvételét bizonyította LOBAN és SNYDER (1971). A peptid transzmittereknek elsősorban az érző ingerátvitelben tulajdonítanak szerepet (P anyag). Az 1948-ban felfedezett P anyagot (HELLAUER és UMRATH 1948) végre sikerült tisztán előállítani és megállapítani, hogy 1400 ms. 11 aminosavból álló peptid (ZETLER 1970), mások szerint 13 aminosavból áll (PISANO 1968). Szerkezete némileg hasonlít az eleidozinhez, mely egy 11 aminosavból álló vazóaktív peptid és simaizomgörcsöt okoz (ERSPAMER 1949). A peptid transzmitterekhez sorolhatók tulajdonképpen a hypophysis releasing faktorai és a hátsó lebeny oktapeptid hormonjai, melyek szintén vezikulumokban tárolódnak és egy nagyobb molekulasúlyú fehérjével, a neurofizinnel együtt szabadulnak fel. A folyamat  $Ca^{++}$  dependens (SACHS 1970). A peptidek feltehetőleg még kiterjedt szerepet játszanak nemcsak a transzmisszióban, hanem az információ (memória) átvitelben és raktározásban is (UNGAR 1972).

A feltételezett mediátor tulajdonságú anyagok közül utolsónak a proszttaglandinokat ismertetjük, mivel a vegyületsoprotot viszonylag nem régóta ismerjük, hatásukról is legkevesebbet tudunk és transzmitter szerepük is a legbizonytalanabb.

Agyból legelőször a  $PGF_2$ -t mutatta ki SAMUELSSON 1964-ben. Miután a fehér állományban nem sikerült kimutatni, csak a szürkében, ezért elsősorban a neuronokra lokalizálták jelenlétüket. Később a  $PGE_1$  és  $PGE_2$ -t is kimutatták agyból (HOLMES és mtsa 1968). A proszttaglandinok a membrán foszfolipidjeiből képződnek két lépésben. Elsőnek a telítetlen zsírsav lehasad a foszfolipáz A hatására, a második lépésben a szabad zsírsav egy endoperoxid intermedier vegyület képzése mellett átalakul a megfelelő proszttaglandinná. A második lépést katalizáló proszttaglandin szintetáz egy multienzim komplex, mely oxigenázét (mono- és dioxigenáze), izomerázét és reduktázét tartalmaz. Egy-másba való átalakulásra nincs lehetőség, regulációjuk az endoperoxid képzés szintjén történik. Raktározásukra sincs mód, bontásuk a proszttaglandin-dehidrogenáz és  $\Delta^{13}$ -reduktáz útján történik. További lebontásuk  $\beta$ - vagy  $\omega$ -oxidációval történik a májban (SAMUELSSON 1964). A proszttaglandin szintézisnek az agyban is hatékony gátlói az aszpirin, indometacin és acetaminofen. A proszttaglandin felszabadulás mértéke az agyszövetből arányos az idegaktivitással, ingerléssel fokozható, altatással csökkenthető. Szerotoninnal fokozható a proszttaglandin felszabadulás a hypothalamusban kutyánál, ahol a szerotonin hőszabályozó szerepet játszik (HOLMES 1970). A likvorban a proszttaglandin szint megnövekszik pirogénekkel előidézett lázas állapotokban

és 10  $\mu\text{g}$   $\text{PGE}_1$  vagy  $\text{PGE}_2$  befecskendezése azonnali hőemelkedést idéz elő; az elülső hypothalamusban már 2  $\mu\text{g}$  bevitele is hatásos (FELDBERG és mtsai 1966). További hatás még a táplálékfelvétel csökkentése (SCARAMUZZI és mtsai 1971), valamint általános nyugtató hatást figyeltek meg prosztaglandin ( $\text{PGE}$ ) kezelés után (HORTON 1964). A  $\text{PGE}$ -k általában nyugalmi állapotban szabadulnak, vagy képződnek, míg a  $\text{PGF}$ -ek koncentrációja ingerlésre nő (BRADLEY és mtsai 1969, RAMWELL és mtsai 1966). SIGGINS (1971) és munkatársai különleges hatást figyeltek meg  $\text{PGE}$ -vel a Purkinje-sejtekben, prosztaglandinnal a noradrenalin gátló hatását fel lehetett függeszteni, de a c-AMP hatását nem. A Purkinje-sejtek még arról is nevezetesek, hogy a prosztaglandint bontó enzimek aktivitása közül itt a legmagasabb a prosztaglandin dehidrogenáz szintje, amint azt hisztokémiai módszer segítségével sikerült kimutatni (SIGGINS és mtsai 1971).

A prosztaglandinok hatásának vizsgálata szövettenyészetben átvezet az interneuronális ingerátvitel másik fő kérdéséhez, a posztszinaptikus membrán és a receptor vizsgálatához. Eger neuroblasztoma tenyészet sejtjein mutatta ki először GILMAN (1972), hogy a  $\text{PGE}_1$  fokozta a sejtek c-AMP tartalmát. A hatást egy mp-en belül észlelték, a legkisebb hatásos adag 1 ng/ml volt. A sejtek c-AMP tartalma, katekolaminok vagy más transzmitterek hatására, melyek agyszövetben vagy gliasejt-tenyészetben a c-AMP szintjét növelték — nem változott. Tekintettel, hogy a neuroblasztoma sejt nem tekinthető azonosnak a neuronnal, az előbbi prosztaglandin érzékenységből nem lehet egyenesen az utóbbiéra is következtetni, de mivel a szürke állományból készült agyszövetekben is a c-AMP szint növekszik prosztaglandin hatására, míg a fehér állományé nem, a neuronok adenilciklázának prosztaglandin érzékenysége nagyon valószínű. Ezt az adatot erősítik még meg látszólag azok a vizsgálatok, hogy a szubcelluláris frakcionálással nyert szinaptoszómák és szinaptikus vezikulumok adenilcikláz aktivitását nem lehetett fokozni biogén aminokkal (BELLEROCHE és mtsai 1974, ISAAC 1972).

Összefoglalva a prosztaglandinokról eddigi ismereteink szerint, ha nem is önálló transzmitterként, de legalább, mint a transzmitter hatások modulátorként beszélhetünk. Érzékenyebb kimutatási módszereket kell még kidolgozni, hogy az egyes agyközpontok prosztaglandin tartalmának különbségeit ki lehessen mutatni.

### *A receptorok biokémiai tulajdonságai*

A c-AMP szerepére az interneuronális ingerátvitelben elsősorban GREENGARD és munkatársainak (1972) vizsgálatai mutattak rá a ganglion cervicale superiorban, HOFFER és munkatársai (1972) a kisagy Purkinje-sejtjeiben, valamint DALY és mtsai (1972) az agyszövetek depolarizációs-ágensekkel történő kezelése után bekövetkező c-AMP szint növekedésére vonatkozó kísér-

letei említésre méltóak. Az alábbiakban ezen reakciók molekuláris mechanizmusával fogunk megismerkedni és e célból nem kizárólag az idegszövet, ill. a posztszinaptikus membránokon végzett viszonylag kisszámú kísérletre szeretnék szorítkozni, hanem ezeken túlmenően a szívizom neurohumorális regulációjára is, ahol a viszonyok egyszerűbbek és jobban tanulmányozhatók, de persze nem biztos, hogy a fentiekkel azonosak.

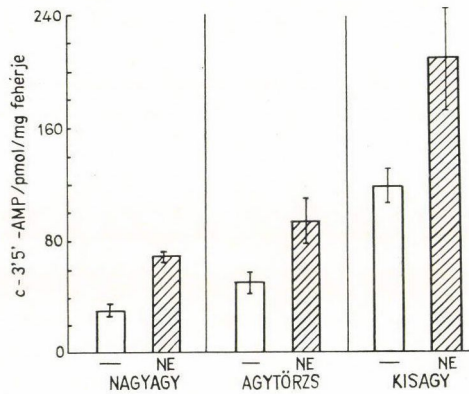
Az adenilcikláz, mely ATP-ből 3'5'-ciklikus AMP-t és pirofoszfátot képez, az emlős sejtekben a membránra lokalizálható. Az enzim két fő részét különböztethetjük meg ROBISON, BUTCHER és SUTHERLAND (1967) elképzelései szerint: a receptor és a katalitikus alegységeket. A receptor a membrán külső felszínén, a katalitikus alegység a belsőn foglal helyet foszfolipid környezetben, mintegy úszva, a SINGER-NICOLSON (1972) modell szerint. Az enzimműködés következtében a keletkezett c-AMP a sejtben levő különböző proteinkinázokat aktiválja, melyek közül elsőnek a foszforiláz aktiválásában szerepet játszó proteinkinázot fedezték fel SUTHERLAND és mtsai (1972). E proteinkinázok (LANGAN 1973) specifikus fehérjéket foszforilálnak, így többek között az idegsejtekben is előforduló tubulint, valamint a sejtmagban előforduló hisztionszerű fehérjéket és ezen keresztül a fehérjeszintézist befolyásolják. A c-AMP még a lipázokat is aktiválja proteinkinázokon keresztül, tehát hatásuk a szénhidrát, fehérje és zsírsavcsere egyaránt kiterjed. A foszforiláló hatást specifikus foszfatázok függesztik fel, a c-AMP-t pedig egy 3'5'-foszfodieszteráz hatástalanítja és 5'-AMP-vé alakítja át. Az enzimet hisztokémiai módszerrel kimutatták a posztszinaptikus membránban (GREENGARD és mtsai 1972).

Visszatérve az adenilcikláz problémájához, bennünket az érdekelt első sorban, hogy a receptor alegység mennyire specifikus, azonosak-e, vagy különbözők szerвенként és sejtenként és milyen molekuláris mechanizmussal működnek?

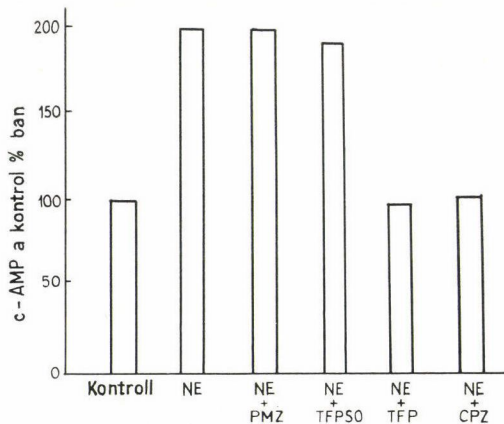
GREENGARD és mtsai (1972), mikor a dopaminerg interneuronon keresztül posztszinaptikusan specifikusan ingerelték az adenilciklázét, a dopamin-adenilcikláz fokozó hatását béta-receptorgátlókkal nem tudták felfüggeszteni, csak alfa-receptorgátlóval. Noradrenalin nem volt olyan hatásos, mint a dopamin. Másol, így a corpus striatumban a dopamin hatását az adenilciklázra haloperidollal és flufenazinnal lehet specifikusan felfüggeszteni (CLEMENT-CORNIER és mtsai 1974). Az idegszövetben a kisagyban a legnagyobb az adenilcikláz aktivitás, de a c-AMP tartalom, csak dekapitálás után növekszik meg lényegesen, utána az agytörzs, hypothalamus, középagy, hippocampus és agykéreg következik sorban (SCHMIDT és mtsai 1972). Agyszereleken noradrenalin a fenti sorrendben fokozza arányosan az adenilcikláz aktivitását, de gátolhatósága fentolaminnal és propranolollal egyaránt jelentős, így alfa- és béta-receptorok egyaránt előfordulnak az agyban. Glia szövettenyészetben ezzel szemben csak béta-receptorokat sikerült kimutatni. Izoproterenollal jobban aktiválható a gliatenyészet, mint noradrenallal, dopaminnal pedig egyál-

talán nem aktiválható (GILMAN 1972). A noradrenalinnál jobban aktiválja az adenilciklázt idegszövetben a hisztamin és az adenzin, utóbbi, mint a szubsztrát (ATP) előanyaga is szerepet játszik (DALY 1972). Valamennyi biogén aminnal történt fokozást a klórpromazin és egyes fenotiazinok gátolják (CLEMENT-CORNIER és mtsai 1974, UZUNOV és mtsa 1972). (1., 2. ábra). Hasonló típusú aktiválást és gátlást, mint a glia sejteknél emlős szívizomban lehet észlelni, ahol szintén béta-receptorok találhatók (WOLLEMANN 1974.)

A transzmitter anyagok specifikusan depletálhatók rezerpinnel, vagy tartósan denerválhatók kémiai módszerekkel (6-hidroxidopaminnal) (UZUNOV és mtsa 1972). Ilyenkor az adenilcikláz alapaktivitása csökken, vagy nem változik, hormoningerelhetősége pedig növekszik. Saját vizsgálatainkban, mely-

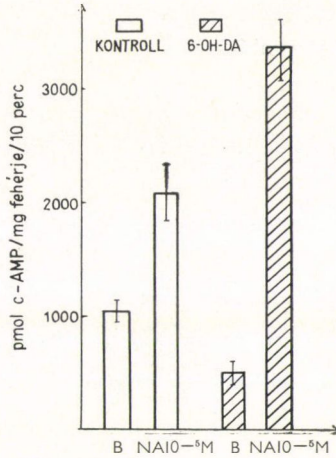


1. ábra. Norepinefrin hatása a c-AMP koncentrációjára patkányagy szeletekben. NE = 0,1mM norepinefrin. UZUNOV és WEISS (1972)

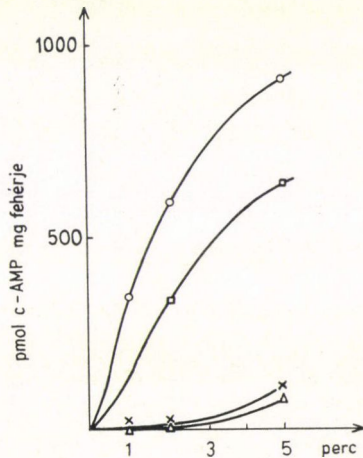


2. ábra. Fenotiazinok hatása a norepinefrin által indukált c-AMP növekedésre patkány agytörzs szeletekben. A c-AMP a kontroll %-ban van feltüntetve. NE = norepinefrin 0,1 mM; PMZ = prometazin 0,5 mM; TFP, TFP, TFP = trifluoperazin szulfoxid 0,5 mM; TFP = trifluoperazin 0,5 mM; CPZ = klórpromazin 0,5 mM. UZUNOV és WEISS (1972)

ket emlős (WOLLEMAN 1974) és puhatestű szíven (WOLLEMAN és RÓZSA 1975) végeztünk, mi is hasonló eredményre jutottunk. (3., 4. ábrák). A hatás magyarázata talán abban rejlik, hogy az adenilcikláz egy része az endogén aminsztet következtében mindig aktivált állapotban van és ez az enzim nem érzékeny a kívülről hozzáadott aminokra. A depletálással és denerválással ezt a szintet csökkentjük, így az ingerelhetőség megnő. Magasabb endogén aktivitású cikláz nagyobb mennyiségű hormon hozzáadásával még gátolni is jobban

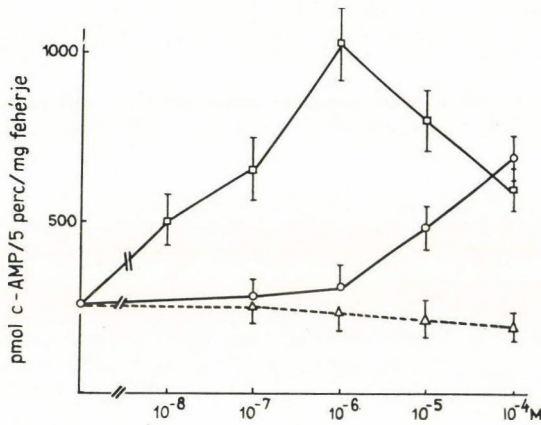


3. ábra. 6-Hidroxidopamin hatása patkányszív adenilcikláz aktivitására. B = alapaktivitás; Na = noradrenalin; 6-OH-DA = 6-hidroxidopamin 100 mg/Kg egy nappal a kísérlet előtt i. p. befecskendezve. Adenilcikláz meghatározás WOLLEMAN (1974). Standard deviáció 6 mintából számítva

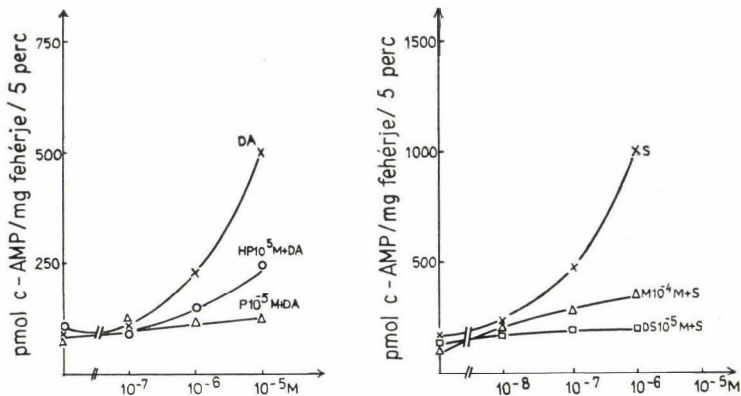


4. ábra. Rezerpinnel kezelt kagylók (*Anodonta cygnea* L.) szívadenilcikláz aktivitása x-alap aktivitás; A-10<sup>-5</sup>M noradrenalin; o-szerotonin 10<sup>-5</sup>M; □-dopamin 10<sup>-5</sup>M. A rezerpin kezelés 2 μM/L koncentrációban történt 2 nappal a meghatározás előtt (WOLLEMAN és RÓZSA 1975).

lehet, mint az alacsonyabb alapaktivitással rendelkezőt. A hormonhatásnak ugyanis van egy optimális koncentrációja, mely felett az aktiváló hatás csökken (5., 6. ábra). Hasonló, de fordított hatás észlelhető a gátlóanyagokkal: magas koncentrációban önmaguk is stimulálják az adenilciklázt, pl. propranolol, DCI szíven a béta-receptort, vagy LSD rovar thoracicus ganglionban a szerotonin receptorokat (NATHANSON és mtsa 1974) stimulálja. Ilyen magas, kb.  $10^{-4}\text{M}$  feletti koncentrációban szelektív gátló hatásuk is csökken. Még egy érdekes hatást figyelhetünk meg a receptorgátlókkal, nevezetesen azt, hogy felfüggesztik az aktiváló gátló hatását, vagyis a nem specifikus kötőhelyekhez történő kötődésüket, mely valószínűleg felelős a gátlásért — felfüggesztik.



5. ábra. Különböző koncentrációjú neurohormonok hatása kagylószív adenilcikláz aktivitására. □-szerotonin; ○-dopamin; △-noradrenalin. Standard deviáció 5 mintából számítva (WOLLEMANN és RÓZSA 1975)



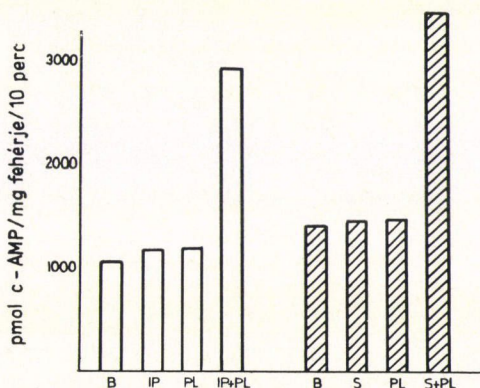
6. ábra. Kagylószív adenilcikláz aktivitása specifikus receptorblokkolók jelenlétében. DA = = dopamin; HP = haloperidol; P = pimozid; S = szerotonin; DS = metizergid (Deseryl); M = morfin



Minthogy a különböző szervekben és szövetekben az adenilciklázét több hormon vagy transzmitter is képes aktiválni, felvetődik az a kérdés, hogy ezek azonos receptoron és katalitikus egységen keresztül hatnak-e, vagy különböző helyeken?

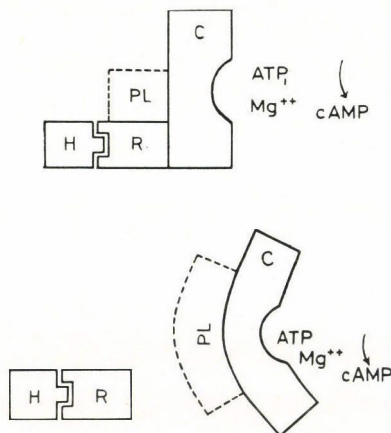
A kísérletek azt igazolják, hogy specifikus gátlószereket használva mindegyik aktiváló anyag külön-külön blokkolható. Így pl. idegszövetben a hisztamin specifikus antihisztamin anyagokkal (feniramin) blokkolható, míg szívben, ahol ún.  $H_2$ -receptorok vannak, burinamid gátolja specifikusan a hisztaminra bekövetkező adenilcikláz aktiválást (BLACK és mtsai 1972). Azonban több aktiválót adva egymás mellett alacsony koncentrációban, ezek egymás hatását erősíthetik. Pl. az agyban noradrenalin és hisztamin együttesen adva nagyobb hatást vált ki, mint külön-külön (DALY 1972). Mindebből arra következtettek, hogy a transzmitterek hatása külön receptorokon keresztül érvényesül, de egy katalitikus alegységgel több receptor is összeköttetést tart fenn. Ez annál inkább érthető, mivel a katalitikus alegység molekulásúlya az eddigi mérések szerint jóval nagyobb (200 000–800 000), mint a receptoroké (50 000) (LEVEY és mtsai 1974, SWISLOCKI 1973, LEFKOWITZ és mtsai 1973).

Ha az adenilcikláz nem ionos detergenssel (Lubrol-PX) kezelik (LEVEY 1971), alapaktivitása megnő, de hormonaktiválhatósága elvész, kivételt képeznek a prosztaglandinok, amelyek a szolubizált enzimre is hatnak, valamint a fluorid, amely szeletben és *in vivo* nem aktivál, de homogenátumban és a szolubilizált enzimet aktiválja. Ebből és a kinetikai vizsgálatokból arra következtettek, hogy ezek az anyagok (F, PG) közvetlenül a katalitikus alegységre hatnak (DRUMMOND és mtsai 1971, JOHNSON és mtsai 1974). A szolubilizált enzimet bizonyos foszfolipidekkel (foszfatidilszerin, foszfatidilinozit elsősorban) (LEVEY 1971) kezelve visszanyeri hormon aktiválhatóságát (7. ábra). Ebből



7. ábra. Foszfolipidek hatása nyúl- és kagylószív adenilcikláz aktivitására. B = alap aktivitás; IP = izoproterenol  $10^{-5}$ M; PL =  $30\mu\text{g}$  nyúlgyóból tisztított foszfolipid; S = szerotonin  $10^{-6}$ M. Világos oszlop nyúl- és kagylószív-kamra, csíkozott oszlop kagylószív-kamra. Az adenilcikláz szolubilizálását LEVEY (1971) szerint végeztük

arra lehet következtetni, hogy a receptort foszfolipidek rögzítik a cikláshoz. Minthogy a hormonaktiválásra vonatkozó kinetikai mérések is azt mutatták, hogy a hormonok nem a katalitikus helynél, vagy annak közelében hatnak (DRUMMOND és mtsai 1971), saját elképzelésünk az, hogy a receptor a hormon vagy transzmitter távollétében gátolt (represszált) állapotban tartja a ciklázt és az aktiválók a receptorhoz kötődve a gátlást felfüggesztik (8. ábra). Emellett szól a szolubizált enzim alapaktivitásának növekedése, a biogén aminok depletálással vagy denerválással bekövetkező csökkenése esetén az alapaktivitás



8. ábra. Az adenilcikláz aktivitásának modellje. H = hormon; R = receptor; PL = foszfolipid; C = katalitikus alegység

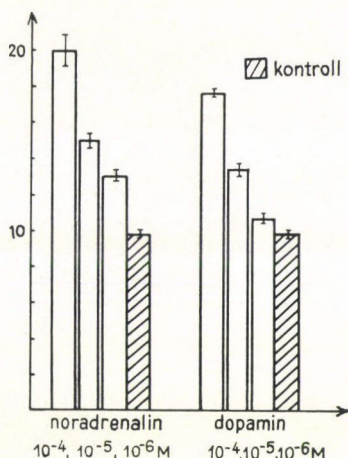
csökkenése és közvetett úton a kinetikai vizsgálatok is ezt az elképzelést támasztják alá. A katekolamin kötő béta-receptor:fehérje tisztításánál (LEFKOWITZ és mtsai 1973) és a glukagon-receptor izolálásánál (LEVEY és mtsai 1974) kiderült, hogy a receptorfehérjének csak egy kis hányada (kb. 10%-a) van az adenilcikláshoz kötve. Mi lehet a funkciója a többi receptornak?

Részben irodalmi adatokra, részben kísérletekre támaszkodva foglalkoztunk még két ismert katekolamin hatással, nevezetesen a foszfolipidek turnover-ére és a  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATP-ázra kifejtett hatással. Az előbbi hatás szervenként és foszfolipid fajtánként változó: gátlás és fokozás egyaránt előfordul, de jellemző, hogy a hatás az adenilciklázal ellentétben csak viszonylag hosszú inkubáció után (30–60 perc) mérhető, míg a hormonnal történő inkubáláshoz 6–10 perc szükséges. A fokozó hatás propranolollal gátolható, tehát itt is béta-receptor típusról van szó, de c-AMP-vel vagy dibutiril-c-AMP-vel a hatást nem lehet előidézni (GAUT és mtsa, KISS és mtsa 1974).

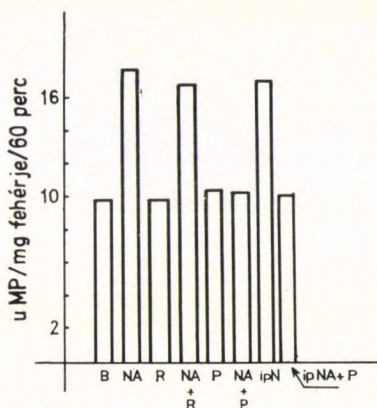
A  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATP-áz az agyban, de különösen a hypothalamusban jól aktiválható katekolaminokkal és kevésbé szerotoninnal (YOSHIMURA 1973). A hatás már  $10^{-6}\text{M}$  noradrenalinval mérhető (9. ábra). Propranolol a hatást

felfüggeszti, míg fentolamin hatástalan (10. ábra), tehát itt is béta típusú receptorról van szó (TÓTH 1974).

A hatást nem lehet c-AMP-vel vagy dibutilil c-AMP-vel kiváltani, vagyis a béta-receptor hatás itt is egy másik, membránhoz kötött enzimmal áll kapcsolatban, a  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATP-ázzal (11. ábra). Az analógia az adenilciklázal még odáig is kiterjed, hogy az 1%-os Lubrol PX-szel szolubizált enzim alapaktivitása itt is megnövekszik és nem fokozható tovább katekolaminokkal (12. ábra), ugyanakkor a foszfolipid tartalma a felére csökken, míg az adenilciklázé az eredeti érték 10%-ra (TÓTH 1974). Ismeretes, hogy a  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATP-áz működéséhez is foszfolipidekre van szükség (GOLDMANN és mtsa 1973).



9. ábra. Noradrenalin és dopamin hatása patkányagy  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATP-áz aktivitására. A  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATP-ázt Järnefelt módszere szerint preparáltuk. Az aktivitást  $\mu\text{M}$  iP/mg fehérje/órában van kifejezve. A standard deviáció kilenc mintából van számítva

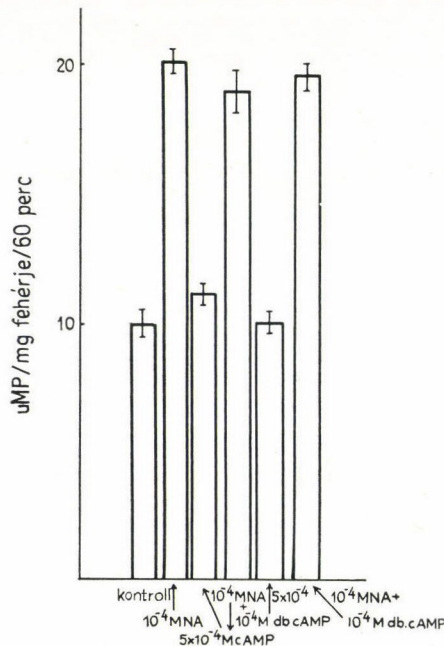


10. ábra. Alfa- és béta-receptor blokkolók hatása patkányagy  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATP-áz aktivitására. B = alapaktivitás; NA = noradrenalin  $10^{-4}\text{M}$ ; R = fentolamin  $10^{-3}\text{M}$  (Regitin); P = propranolol  $10^{-3}\text{M}$ ; iPNA = izoproterenol  $10^{-4}\text{M}$

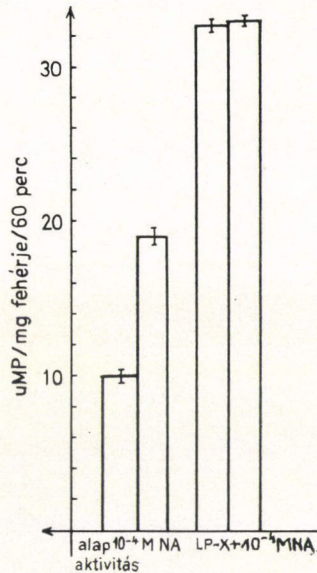
Tekintetbe véve a hypothalamus viszonylag magas katekolamin tartalmát ( $2 \mu\text{g}/\text{gr}$ ) patkányban a hatásnak itt fiziológiai jelentősége is lehet. Más szervekben a hatás kisebb (pl. szívizomban), de ott is mérhető.

Fentiekből összefoglalva az a következtetés vonható le, hogy a béta-receptor és az adenilcikláz között nem olyan kizárólagosan szoros a kapcsolat, mint ahogy azt régebben SUTHERLANDék feltételezték (ROBISON és mtsai 1967).

Az unitáriusok vagy monisták eredetileg úgy képzelték, hogy egyedül a c-AMP koncentrációjának változtatásával a sejtműködés mindkét irányban szabályozható. Így szívben megállapították (MURAD és mtsai 1962), hogy az acetilkolin gátolja az adenilcikláz, a katekolaminok pedig fokozzák, tehát a kétféle hatást egyedül a c-AMP szintjének változtatásával képzelték el. GEORGE és mtsai (1970), GOLDBERG és mtsai (1973), WOLLENBERGER és mtsai (1973) vizsgálatai óta azonban tudjuk, hogy ezért a hatásért egy másik ciklikus nukleotida a  $3'5'$ -ciklikus-GMP a felelős. Ez a második messenger az acetilkolin muszkarinos receptorainak, melyek atropinnal gátolhatók, míg a nikotinos receptorok második messengerét, ha egyáltalán létezik — nem ismerjük, bár magát a receptor fehérjét tisztán előállították (CHANGEUX 1971). A c-AMP és c-GMP koncentrációjának változását a szív működés közben WOLLENBERGER és munkatársai (1973) vizsgálták és megállapították, hogy a változásuk egymással ellentétes irányú. A c-GMP jelenlétét az agyszövetből is kimutatták és megállapították, hogy koncentrációja a kisagyban a legmagasabb, ahol



11. ábra. c-AMP és dibutiril-c-AMP hatása patkányagy  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATP-áz aktivitására. NA = noradrenalin; dbcAMP = dibutiril-c-AMP



12. ábra. Szolubilizálás hatása patkányag  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATP-áz aktivitására. NA = noradrenalin  $10^{-4}\text{M}$ . Az enzim szolubilizálása Lubrol PX-szel történt LEVEY (1971) módszere szerint

eléri a c-AMP szintjét, míg másutt általában egy nagyságrenddel alacsonyabb (GOLDBERG és mtsai 1973). Szívben acetilkolin hatására ( $10^{-5}\text{M}/10$  mp alatt) 240%-kal növekedett a c-GMP szintje (GEORGE és mtsai 1970). Az aktiválást csak szövetszeleteken sikerült kimutatni, mivel homogenizálás közben a c-GMP-t GTP-ből képző enzim, a guanilcikláz spontán leoldódik a membránról és többet nem aktiválható kívülről hozzátett hormonokkal. Ez egyben rámutat a szövetszelet technika előnyeire a hormonaktiválás esetében. Szövettenyésztésben a c-GMP a sejtosztódás előtt szaporodik fel, és a kívülről a szövettenyésztésbe bevitt c-GMP a differenciálást gátolja, míg a c-AMP-nek ezzel ellentétes hatása van, pl. a neuroblasztok differenciálását elősegíti és osztódásukat gátolja (GILMAN és NIRENBERG 1971).

A c-GMP hatását ugyancsak specifikus proteinkinázokon keresztül fejti ki, de a hatás következményei ellentétesek a c-AMP hatásaival. A c-GMP hatásáról és következményeiről az idegműködésben még kevesebbet tudunk, mint a c-AMP-ről és ennek tisztázása még a jövő feladata.

### Összefoglalás

Az interneuronális ingerátvitel kémiajának kutatása az elmúlt 10–15 évben nagy lépésekkel haladt előre. Az előrehaladás főbb eredményei a szinaptoszómák és szinaptikus vezikulumok előállítása és tisztítása, újabb mediátorok

és modulátorok felfedezése (aminósavak, peptidek és prosztaglandinok) és ezen vegyületek anyagcseréjének, felvételének, raktározásának, felszabadulásának vizsgálata, a receptorok izolálása és a ciklikus nukleotidok felfedezése, anyagcseréjük és hatásuk vizsgálata. Remélhető, hogy az elkövetkezendő években a ma még hiányzó láncszemek, különösen az ion-carrierek, a peptid-transzmitterek és hatásuk vizsgálata fejlődik majd, és a mostanihoz viszonyítva lényegesen többet fogunk tudni az interneuronális áttevődés kémiai mechanizmusáról.

#### IRODALOM

1. BALDESSARINI, R. J.: *Ann. Rev. Physiol.* **35**, 273 (1973).
2. BELLEROCHE, J. S., GAS, I. és BRADFORD, H. F.: *Biochem. Pharmacol.* **23**, 835 (1974).
3. BERL, S., PUSZKIN, S. és NICKLAS, W. J.: *Science* **179**, 441 (1973).
4. BLACK, J. W., DUNCAN, W. A. M., DURANT, C. J., GANELLIN, C. R. és PARSONS, E. M.: *Nature* **236**, 385 (1972).
5. BLOOM, F. E.: *Brain Res.* **62**, 299 (1973).
6. BRADLEY, P. B., SAMULES, G. M. R. és SJAW, J. E.: *Br. J. Pharmacol.* **37**, 151 (1969).
7. CHANGEUX, P. J., MEUNIER, J. C. és HUCHET, M.: *Mol. Pharmacol.* **7**, 538 (1971).
8. CLEMENT-CORNIER, Y. C., KEBABIAN, J. W., PETZOLD, G. L. és GREENGARD, P.: *Proc. Nat. Acad. Sci.* **71**, 1113 (1974).
9. CURTIS, D. R. és WATKINS, J. S.: *Nature* **191**, 1010 (1961).
10. DALY, J. W., HUANG, M. és SHIMIZU, H.: *Adv. in Cyclic Nucleotide Research.* **1**, 375 (1972).
11. DE ROBERTIS, E. és RODRIGUEZ DE LORES ARNAIZ, G.: *Handbook of Neurochemistry* **2**, 365 (1969). Ed. A. Lajtha, Plenum, N. Y.
12. DE ROBERTIS, E.: *J. Neurochem.* **9**, 23 (1962).
13. DRUMMOND, G. I. L., SEVERSON, D. L. és DUNCAN, L.: *J. Biol. Chem.* **246**, 4166 (1971).
14. ECCLES, J. C.: *The Physiology of Nerve Cells.* John Hopkins Press, Baltimore (1957).
15. ERLANGER, J.: *J. Neurophysiol.* **2**, 370 (1939).
16. ERSPAMER, V.: *Experientia* **5**, 79 (1949).
17. FELDBERG, W.: *Brit. Med. Bull.* **6**, 312 (1950).
18. FELDBERG, W., HELLON, R. F. és MYERS, R. D.: *J. Physiol.* **416**, 186 (1966).
19. GAUT, Z. N., HUGGINS, C. G.: *Nature* **212**, 612 (1970).
20. GEORGE, W. J., POLSON, J. B., O'TOOLE, A. C. és GOLDBERG, N. D.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.* **66**, 398 (1970).
21. GFELLER, E., KUJAR, M. J. és SNYDER, S. S.: *Proc. Natl. Acad. Sci.* **68**, 155 (1971).
22. GILMAN, A. G.: *Adv. in Cyclic Nucleotide Research* **3**, 155 (1973).
23. GILMAN, A. G. és NIRENBERG, M.: *Nature* **234**, 356 (1971).
24. GOLDBERG, N. D., O'DEA, R. F. és HADDOX, M. K.: *Adv. in Cyclic Nucleotide Research* **1**, 337 (1973).
25. GOLDMAN, S. S. és ALBERS, R. W.: *J. Biol. Chem.* **248**, 867 (1972).
26. GREENGARD, P., MCAFEE és KEBABIAN, J. W.: *Adv. in Cyclic Nucleotide Research* **1**, 337 (1972).
27. GRUNDFEST, H.: *The nature of the electrochemical potentials of bioelectric tissues. Electrochemistry in Biology and Medicine.* N. Y. Wiley (1955).
28. HELLAUER, H. F. és UMRATH, K.: *Pflüg. Arch. ges. Physiol.* **249**, 619 (1948), **250**, 737 (1948).
29. HOFFER, B. J., SIGGINS, G. R., OLIVER, A. P. és BLOOM, E. F.: *Adv. in Cyclic Nucleotide Research* **1**, 411 (1970).
30. HOLMES, S. W.: *Br. J. Pharmacol.* **37**, 653 (1970).
31. HOLMES, S. W. és HORTON, E. W.: *J. Physiol.* **195**, 731 (1968).
32. HORTON, E. W.: *Br. J. Pharmacol.* **22**, 189 (1964).
33. ISAAC, P. és GRAHAME-SMITH, D. G.: *Adv. in Cyclic Nucleotide Res.* **1**, 576 (1972).
34. IVERSEN, L. L.: *The Uptake and Storage of Noradrenaline in Sympathetic Nerves* (Cambridge University Press, N. Y. (1967).
35. JOHNSON, D. G., THOMPSON, W. J. és SULAKHE, P. V.: *J. Biol. Chem.* **247**, 2949 (1972).
36. KISS, Z. és FARKAS, T.: *Biochem. Pharmacol. Közlés alatt* (1975).
37. KIRSCHNER, N. J. és KIRSCHNER, A. G.: *Phil. Trans. Roy. Soc. London, B*, **261**, 279 (1971).
38. KIRSCHNER, N. J., SAGE, W. J. és KIRSCHNER, A. G.: *Science* **154**, 529 (1966).

39. KORNGUTH, S. E., FLANGAS, L. F., SIEGEL, R. L., GEISON, J. F., O'BRIEN, C. L. és SCOTT, G.: *J. Biol. Chem.* **246**, 1177 (1971).
40. LANGAN, T. A.: *Adv. in Cyclic Nucleotide Research* **3**, 99 (1973).
41. LEFKOWITZ, R. J., SHARP, G. W. G. és HABER, E.: *J. Biol. Chem.* **248**, 342 (1973).
42. LEVEY, G. S.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **43**, 108 (1971).
43. LEVEY, G. S., FLETCHER, M. A., KLEIN, I., RUIZ, E. és SCHENK, A.: *J. Biol. Chem.* **249**, 1974 (1974).
44. LOBAN, W. J., SNYDER, S. H.: *Nature* **234**, 297 (1971).
45. MURAD, F., CHI, Y. M., RALL, T. W. és SUTHERLAND, E. W.: *J. Biol. Chem.* **237**, 1233 (1962).
46. NACHMANSOHN, D.: *Chemical and Molecular Basis of Nerve Activity*. Acad. Press. N. Y. (1959).
47. NATHANSOHN, J. A. és GREENGARD, P.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S.* **71**, 797 (1974).
48. PISANO, J. J.: *Fed. Proc.* **27**, 58 (1968).
49. RAMWELL, P. W., SHAW, J. E. és JESSUP, R.: *Am. J. Physiol.* **21**, 998 (1966).
50. ROBISON, G. A., BUTCHER, R. W. és SUTHERLAND, E. W.: *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **139**, 703 (1967).
51. SACHS, H.: *Handbook of Neurochem.* **4**, 373 (1970).
52. SAMUELSSON, B.: *Biochim. Biophys. Acta* **84**, 218 (1964).
53. SCARAMUZZI, O. E., BAILE, C. A. és MAYER, J.: *Experientia* **27**, 256 (1971).
54. SCHMIDT, M. J., SCHMIDT, D. E. és ROBISON, G. A.: *Adv. in Cyclic Nucleotide Research* **1**, 425 (1972).
55. SIGGINS, G., HOFFER, B. és BLOOM, F.: *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **180**, 302 (1971).
56. SINGER, S. J. és NICOLSON, G. L.: *Science* **175**, 720 (1972).
57. SNYDER, S. J., KUCHAR, M. J., GREEN, A. I., COYLE, J. T. és SASHAN, E. G.: *Int. Rev. Neurobiol.* **13**, 127 (1970).
58. SUTHERLAND, E. W.: *Science* **177**, 401 (1972).
59. SWISLOCKI, N. I. és TIERNEY, J.: *Biochem.* **12**, 1862 (1973).
60. TÓTH I.: *Biogén aminok hatása a patkányagy  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATP-áz aktivitására*. Diploma-munka, JATE, Szeged (1974).
61. UNGAR, G.: *Naturwissenschaften* **59**, 85 (1972).
62. UZUNOV, P. és WEISS, B.: *Adv. in Cyclic Nucleotide Research* **1**, 435 (1972).
63. VIZY, E. S.: *J. Physiol.* **266**, 95 (1972).
64. WHITE, T. D. és KEEN, P.: *Mol. Pharmacol.* **7**, 40 (1971).
65. WHITTAKER, V. P.: *Biochem. J.* **72**, 369 (1959).
66. WHITTAKER, V. P.: *Naturwissenschaften* **60**, 281 (1973).
67. WHITTAKER, V. P., DOWE, G. és SCOTTO, J.: *Abstr. Commun. 3rd. Int. meet. Int. Soc. Neurochem. Budapest*, p. 266 (1971).
68. WOFSEY, A. R., KUCHAR, M. J. és SNYDER, S. H.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S.* **68**, 1102 (1971).
69. WOLLEMAN, M.: *Métabolisme des médiateurs chimiques du système nerveux*. Akadémiai Kiadó, Budapest, Masson Paris (1970).
70. WOLLEMAN, M., BORBOLA, J. JR., PAPP, Gy. és SZEKERES, L.: *J. Mol. Cell. Card. közlés alatt* (1975).
71. WOLLEMAN, M.: *Adv. in Biochem. Psychopharmacol.* **9**, 663 (1971).
72. WOLLEMAN, M. és RÓZSA, K.: *Comp. Biochem. Physiol. Vol 50 C* (1975).
73. WOLLEMAN M.: *Abstracts of Commun. 9th Meet Fed. Europ. Biochem. Soc.* p. 321. Budapest, 1974.
74. WOLLENBERGER, A., BABSKII, E. B., KRAUSE, E. G., GENZ, S., BLOHM, D. és BOGDANOVA, E. V.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **55**, 446 (1973).
75. YOSHIMURA, K.: *J. Biochem.* **74**, 389 (1973).
76. ZETLER, G.: *Handbook of Neurochemistry* **4**, 135 (1970). Ed. A. Lajtha, Plenum, N. Y.