

BIOLÓGIAILAG AKTÍV ANYAGOK HATÁSA INGERLÉKENY MEMBRÁNOKON

S.-RÓZSA KATALIN

MTA Biológiai Kutatóintézete, Tihany

Közel 70 éve bizonyították először, hogy az idegrendszer hatása valamely effektor szervén kémiai anyag közbeiktatásával valósul meg. A következő bioaktív anyagot azonban csak 20 évvel később identifikálták. Amikor az ingerületáttevődés kémiai elmélete elfogadottá vált, számos kísérlet történt újabb és újabb transzmitter anyagok felfedezésére. A valódi transzmitterek száma azonban meglepően kevésnek bizonyult. Igazoltan transzmitter az acetilcholin, a katecholaminok közül gerincesekben a noradrenalin és puhatestűekben a dopamin, puhatestűek központi idegrendszerében és szívében az 5-hidroxitriptamin, rovarok vázizmán és rákok stretch receptorán a GABA, valamint a rovarok és puhatestűek neuromuszkuláris junkcióiban a glutamát. A feltételezett transzmitterek között a glicin és más aminosavak, hisztamin stb. is szerepelnek (FLOREY 1967, GERSCHENFELD 1973).

Az utóbbi időben nem újabb transzmitterek feltárása, hanem a bioaktív anyagok hatásmódjának tisztázása jelentette az előrelépést a kémiai áttevődés vizsgálatában. A transzmitterek hatásmódjának vizsgálatához a mikroelektroda technika bevezetése nagy segítséget jelentett, mivel lehetővé tette az anyaghatások membrán szinten történő vizsgálatát. Ezek a kutatások igazolták, hogy a kevés számú transzmitter is sokféle hatás kialakulását teszi lehetővé.

A membránok eltérő kémiai érzékenysége képezi alapját a differenciált sejtműködésnek. A különféle bioaktív anyagok hatására szelektíven változik a membránok permeabilitása egyik vagy másik ionra, s ez az ingerületfelvétel, továbbítás és analízis megvalósulásában elsődrendű jelentőségű, mert a szabályozás alapját képezi a különféle struktúrákban. A bioaktív anyagok sejtmembránra kifejtett hatásának tanulmányozását FATT és KATZ (1950) kezdték, akik kimutatták, hogy a posztszinaptikus idegvégződésekből felszabaduló kémiai transzmitterek gátló vagy serkentő hatását a posztszinaptikus membrán vezetőképességének meghatározott változásával lehet összefüggésbe hozni, de általánosan elterjedt ez a vizsgálati mód csak az utóbbi években vált (l. GINSBORG 1973). Az anyaghatásra fellépő elektromos változás képviseli jelenleg azt a regisztrálható leggyorsabb mutatót, mely a membrán tulajdonságok tranzienst változásait tükrözi.

1. Ingerlékeny membránok jellemző potenciáljai

Közismert, hogy az ingerlékeny membránok — más élő membránokhoz hasonlóan — egyenlőtlen ioneloszlást biztosítanak, melynek jellemzője, hogy a fő intracelluláris kation a K^+ , míg az extracelluláris a Na^+ . Nyugalomban a membrán permeabilitása magasabb a K^+ , mint a Na^+ ionokra, s ennek következtében a membrán két oldala között létrejött potenciálkülönbség (nyugalmi vagy membránpotenciál; MP) K -egyensúly potenciálként (E_K) értelmezhető. Gyakorlatilag azonban a MP kisebb, mint E_K , ami azt jelenti, hogy a membrán nyugalomban más ionokra (részben Na -ra, de Cl -re) is permeabilis. Ezt figyelembe véve írja le a MP-t a Goldman-egyenlet, mely azt a megállapítást is tükrözi, hogy ha a környezet valamely ionjára nézve megnő a permeabilitás, ott az MP annak az ionnak egyensúly potenciálja felé törekszik. E megállapításokat más előadók részleteiben analizálták (SALÁNKI 1968, KOVÁCS 1973), ezért itt csak az összefüggés végső konklúzióját kifejező egyenletet adjuk meg egyszerűsített formában:

$$E = \frac{RT}{F} \ln \frac{P_K K_o + P_{Na} Na_o + P_{Cl} Cl_i}{P_K K_i + P_{Na} Na_i + P_{Cl} Cl_o} \quad (1)$$

Ha az ionkoncentrációkat az adott ionra érvényes egyensúlypotenciálként, a permeabilitást pedig vezetőképességként kezeljük, akkor az egyenlet az alábbiak szerint alakul:

$$E = \frac{G_K E_K + G_{Na} E_{Na} + G_{Cl} E_{Cl}}{G_K + G_{Na} + G_{Cl}} \quad (2)$$

ahol

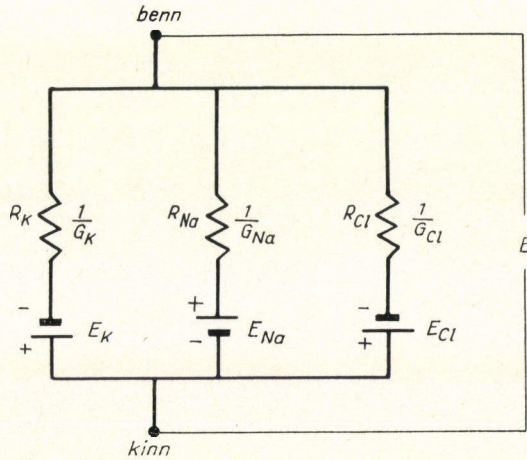
E_K, E_{Na}, E_{Cl} — az adott ion egyensúlypotenciálja,

G — az adott ionra érvényes vezetőképesség.

A fenti összefüggés ekvivalens áramkörként értelmezhető (1. ábra), bár általános érvényű fizikai modell az ingerlékeny biológiai membránok elektrokémiai viselkedésére még nincsen. Az 1. ábra demonstrálja, hogy a 2. egyenletbe behelyettesített értékek alapján az E_K és E_{Cl} negatív, míg az E_{Na} pozitív értéket vesz fel. Az 1. ábrán demonstrált ekvivalens kör egyben mutatja, hogy az akciós potenciál (AP) keletkezése megmagyarázható a G_K , G_{Na} és G_{Cl} tulajdonságaival. Ugyanis a G_{Na} tranziens növekedése lép fel csökkentett MP érték mellett, míg a G_K késleltetve ugyan, de tartósabban megnő. A permeabilitási viszonyok változásának eredményeként a membrán ingerületbe jut és AP-t generál. Ez az áram E_{Na} irányú lesz (bár bizonyos esetekben nemcsak a Na -ionok vesznek részt az AP kialakításában).

A MP és AP mellett a posztzinaptikus membránokból junkciós potenciálok (PSP) is elvezethetők, melyek lehetnek serkentők vagy gátlók. A junkciós potenciálokat a preszinaptikus ideg aktivitása gerjeszti a posztzinapti-

kus sejten, majd, ha ezek serkentők, hatásukra az utóbbi AP-t generál. Bizonyos sejtekből csak serkentő posztszinaptikus potenciálok (SPSP) vezethetők el (gerincesek vázizma), de ahol a posztszinaptikus sejtnak integratív funkciója is van, ott gátló posztszinaptikus potenciálok (GPSP) is kimutathatók, melyek az AP képzést gátolják. A PSP a legtöbb esetben a posztszinaptikus membrán kis területein lezajló permeabilitás változások eredménye, melyek transzmitter anyagok hatására jönnek létre (részletesen I. később).



1. ábra. Ingerlékeny membrán potenciálkülönbségét reprezentáló ekvivalens áramkör, amelyben a különböző ionok számára különböző csatornák vannak. A telepek, (E_K , E_{Na} , E_{Cl}) a potenciálkülönbségek irányát mutatják, valamint összességükben (E) a külső és belső felszín között fennálló potenciálkülönbséget. Az R a megfelelő ellenállásokat, a G a vezetőképességet (permeabilitást) jelzi, ami nem más mint az ellenállás reciproka (GINSBORG 1973)

2. Anyaghatások mikroelektrofiziológiai vizsgálómódszerei ingerlékeny membránokon

A legáltalánosabban alkalmazott módszer az anyagok membránhatásának vizsgálatában a transzmitter egyensúly potenciáljának meghatározásán alapul.

E vizsgálatokban két mikroelektrodát visznek be egyetlen sejtbe, melyek közül az egyikkel az MP értéket regisztrálják, a másikkal pedig ismert karakterisztikájú áramot bocsátanak át a membránon. Így a megfelelő áram kiválasztásával a MP bármely szintre beállítható. Ezután ingerlik a preszinaptikus ideget, vagy a vizsgált anyagot iontoforetikusan applikálják a membrán külső felszínére. Az adott MP érték és a választ közötti kvantitatív összefüggésből ki lehet számítani a transzmitter anyag egyensúlypotenciálját, s ebből az ionvezetőképesség változás természetére lehet következtetni (GINSBORG 1973).

A voltage clamp technikát elsőként TAKEUCHI és TAKEUCHI (1959) alkalmazták a neuromuszkuláris áttevődés vizsgálatára. Ez esetben a MP értéke fixált, mely transzmitter hatására sem változhat, s azt az áramot, amely szükséges ahhoz, hogy a transzmitter hatás alatt konstans szinten tartsa a MP-t, direkt mérik, s ez mutatja a szinaptikus terület elektromos tulajdonságainak változását.

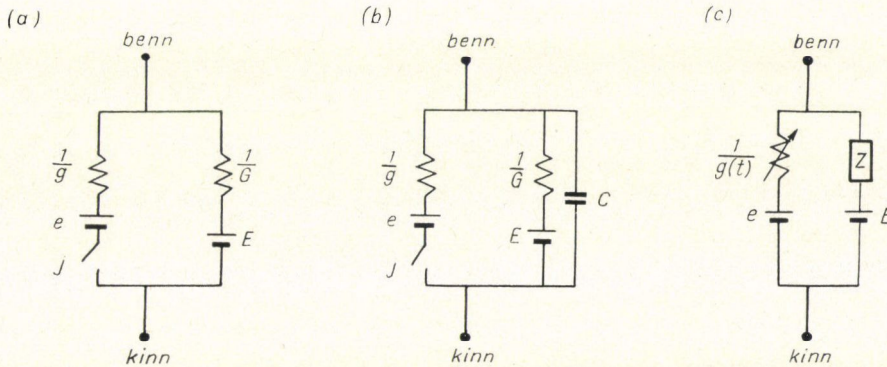
A transzmitter hatás legjellemzőbb mérhető paramétere az a MP érték, amelynél nincs válasz, ha a szinaptikus terület aktiválódik. Ezt az értéket nevezik „transzmitter egyensúly potenciálnak”, amely elvben azonos a vezetőképesség változással, ha a folyamatban csak egy ion vesz részt. Ennek megfelelően, ha pl. a szinaptikus válasz a Cl-esatorna kinyitásának eredménye és a MP-t E_{Cl} értékre állítják be a szinaptikus terület aktiválásának idejére, akkor vezetőképesség változás jön létre, de nem változik a MP értéke. Ha több ion vesz részt a folyamatban, akkor az analízis összetettebb.

A fenti módszer serkentő és gátló válaszok vizsgálatára egyaránt alkalmas, de a serkentő válaszok elemzésében több nehézséggel kell számolni. A fő problémát az jelenti, hogy a serkentő transzmitter egyensúly potenciálja pozitívabb a küszöbnél, s így a MP alacsony szinten történő fixálásakor AP generálás indulhat be. Másik nehézség, hogy bizonyos szövetekben (pl. vázizom, béka szimpatikus ganglion sejtjei) szinaptikus potenciálok nehezen válthatók ki izoláltan, mert már egyetlen idegrost ingerlése is elegendő transzmittert szabadít fel, hogy olyan mérvű szinaptikus potenciál képződjék, mely rögtön AP generálást indukál. Ez esetben a receptorok érzékenységének csökkentésével lehet a MP értékét a kívánt szinten tartani.

3. A kémiai szinapszisok működése, az anyagok membránhatásának értelmezése

Az élővilágban az ingerület keletkezésében és áttevődésében a kémiai szinapszisok jutottak túlsúlyra, s jelen közlemény csak ezek működését vizsgálja. A kémiai áttevődésű szinapszisokban a potenciál a szinaptikus membránokon keletkezik, ahol a transzmitter a preszinaptikus neuronból felszabadulva és a szinaptikus résen átdiffundálva kölcsönhatásba lép specifikus receptor molekulával. A transzmitter és receptor kölcsönhatás eredményeként specifikusan megváltozik a membrán permeabilitása valamely ionra, és így áram folyik a posztszinaptikus neuron szubszinaptikus és extraszinaptikus membránjai között. Attól függően, hogy milyen ionra nézve változott meg a permeabilitás, valamint az adott ion intra- és extracelluláris koncentrációjától függően, az áram egyik vagy másik irányba folyhat, vagyis depolarizáció eredményeként serkentő, vagy hiperpolarizáció következtében gátló hatás jöhet létre a posztszinaptikus sejt membránján (RANG 1973, GERSCHENFELD 1973).

A szinaptikus válasz nagysága függ a felszabaduló transzmitter mennyiségétől, az inaktiváló mechanizmus intenzitásától, a receptorhelyek érzékenységtől, a posztszinaptikus neuron iontartalmától és a posztszinaptikus neuron membránjának biofizikai tulajdonságaitól. A szinaptikus hatás és aktivitás átmeneti jelenség, mivel a transzmitter hatás időben mindig limitált (lebomlik, felszabadulása szünetel, vagy a receptorok deszenzitizálódnak).



2. ábra. Ekvivalens áramkör transzmitterek membrán hatásának demonstrálására. a, b: a j kulcs záródását demonstrálja; c: — a $g(t)$ növekedést mutatja zérótól és vissza G — a membrán vezetőképessége; C — a membrán kapacitása; r — a membrán belső ellenállása egy egységnyi hosszon. A bemenet vezetőképessége $G_0 = \sqrt{\frac{G}{r}}$. A $MP = V$, a MP változása a j kapcsoló zárásakor ΔV , ez utóbbi depolarizáláskor pozitív. Az ábra vezetőképesség növekedést demonstrál (GINSBORG 1973)

A transzmitter anyagok hatása a membránon ugyancsak értelmezhető ekvivalens áramkörök segítségével. A 2. ábrán a transzmitter hatást demonstráló áramkörök láthatók, ahol a sejt nem-szinaptikus területét az R , G , az aktivált szinaptikus területeket az e , g elemek szimbolizálják. A transzmitter hatás a „j” kapcsoló zárásával azonos (2a, b ábrák). A MP változás (ΔV) ez esetben a következő módon írható fel:

$$\Delta V = \frac{g(e - E)}{g + G} = \frac{g}{g + G} V_0 \tag{3}$$

ahol: $V_0 = e - E$

A membránpotenciál változás abban az esetben, ha pl. $E = -70$ mV, $e = -10$ mV, $g = G$, akkor $\Delta V = 1/2 (-10 - (-70)) = 30$ mV érték lesz, ami azt jelenti, hogy a transzmitter serkentő hatású és 30 mV-tal depolarizálja a membránt.

Ha a membránkapacitást figyelembe vesszük, akkor az anyaghatásra megjelenő szinaptikus potenciálok időtartamát is levezethetjük a 2b ábrából. Ez esetben a pontos analízis nagymértékben függ a sejt formájától és elektro-

mos tulajdonságaitól. Gyakran azonban a szinaptikus potenciálok eltűnésének időviszonya a membrán kapacitás kisülését reprezentálja a membrán nem-szinaptikus ion csatornáin át. A 2b ábrán demonstrált áramkörben, ha a j kapcsoló T idő alatt bezáródik, akkor a szinaptikus potenciál az alábbi egyenlettel határozható meg:

$$\text{felszálló szár:} \quad \Delta V = \frac{g}{g+G} V_0 (1 - e^{-t/\theta}), t \leq T \quad (4)$$

$$\text{leszálló szár:} \quad \Delta V = \Delta V(T) e^{-t/\varphi}, t > T \quad (5)$$

$$\text{ahol } V_0 = e - E, \quad \theta = \frac{C}{g+G}, \quad \varphi = \frac{C}{G}$$

Ha a T kicsi a θ -hoz viszonyítva, akkor a ΔV csúcsertékét a $e^{-t/\theta} = 1 - T/\theta$ behelyettesítéssel lehet kifejezni, vagyis $\Delta V(T) = g/C \cdot TV_0$ lesz.

Bizonyos értelemben a transzmitter hatását legjobban a 2c ábra demonstrálja. Itt a sejtnek megfelelő elektromos ekvivalens körről csak az a feltetelezés, hogy azt a Z impedancia reprezentálja minden adott MP értéknek megfelelően. Ha a Z egyszerű parallel ellenállás és kapacitás kombinációból áll, akkor

$$g(t) = \frac{1}{e-v} \left\{ C \frac{dV}{dt} + \frac{V}{R} \right\} \quad (6)$$

Ez utóbbi megfontolásokat alkalmazták béka szimpatikus ganglion sejtjeinek vizsgálatakor (NISHI és KOKETSU 1960), s bizonyították, hogy a transzmitter hatás elsődlegesen a szinaptikus potenciálok felszálló szárával kapcsolatos.

A 2. ábrán demonstrált ekvivalens körök alapján meg lehet határozni a szinaptikus potenciálok irányát. Kísérletesen ez akkor lehetséges, ha két mikroelektrodát alkalmazunk egyetlen sejtben, s a MP értékét tetszés szerint variáljuk. Kiindulva a 2. ábrából, tegyük fel, hogy az áramerősség (I) konstans marad akkor is, ha az ellenállás változik. Egy egyszerű áramkörben (2a ábra), ha a „ j ” kapcsoló nyitva van, akkor $V = E + I/G$. Viszont, ha a „ j ” kapcsoló zárva van, akkor a V értéke változni fog, és $V = (GE + ge + I)/(G + g)$ értékkel lesz egyenlő, amelyből a MP változása (ΔV) az alábbi alakban írható fel;

$$\Delta V = \frac{g}{g+G} (e - V) \quad (7)$$

Ilymódon a modelltől megállapítható, hogy a szinaptikus potenciál iránya az adott MP-től függ, s ezt gyakorlati mérések is igazolták (NISHI és KOKETSU 1960, GINSBORG 1973). A „ g ” kiszámítása a gyakorlatban ezekben a kísérle-

tekben nehézségekbe ütközik a membránkapacitás összetett jellege és a transzmitter hatásának időleges volta miatt, de az „ e ” (transzmitter egyensúlypotenciál) meghatározható. Némi komplikációt okoz az is, hogy a mikroelektrodák beszúrása a sejtbe nem mindig a szinaptikus területeken történik.

A membránkapacitás összetettségéből eredő problémát a voltage clamp módszer alkalmazásával lehet kiküszöbölni, ahol a MP értéke konstans marad akkor is, amikor a szinaptikus területek elektromos tulajdonságai változnak. Az MP meghatározott szinten tartásához bizonyos mennyiségű áram szükséges, mely direkt méri az elektromos tulajdonságok változását ami az alábbi képlettel fejezhető ki:

$$g(t) = i(t)/(V - e) \quad (8)$$

Elvben az „ e ” értéke a V -ből meghatározható, s ugyanebből direkt vagy extrapolálás révén kiszámítható az $i = 0$ érték. A voltage clamp módszer alkalmazását a sejtek geometriai felépítése nehezíti, valamint az a tény, hogy a szinaptikus és nem szinaptikus területek egyaránt aktiválódhatnak anyagok hatására.

Az anyagok hatásában nemcsak vezetőképesség növekedéssel, hanem vezetőképesség csökkenéssel is számolni kell. Az előzőekben ismertetett ekvivalens köröket figyelembe véve (2. ábra) ekkor a kiindulási helyzetben a „ j ” kapcsoló zárva van, s a folyamat ennek megnyitásával kezdődik. Ez a folyamat szimbolizálja a bezárt csatorna anyaghatásokra fellépő kinyílását a membránban. Ez esetben a vezetőképesség ($G + g$)-ről G értékre csökken, s a MP változást az alábbi egyenlet határozza meg:

$$\Delta V = (e - E)/(1 + g/G) \quad (9)$$

A ΔV érték, vagyis az, hogy a válasz depolarizáló, vagy hiperpolarizáló lesz-e, attól függ, hogy az „ e ” kevésbé vagy erősebben negatív-e az „ E ”-nél. Általánosan elfogadott, hogy ha valamely transzmitter a „csatornákat” kinyitja, akkor a depolarizáló szinaptikus potenciálok csökkennek, eltűnnek, majd ellentétes irányúvá válnak a membrán depolarizálás mértékétől függően. A csatornák zárása révén ható transzmitter effektus viszont arra irányul, hogy a membrán hiperpolarizálásának függvényében változtassa meg a szinaptikus potenciálok irányát. Mindkét fajta hatást leírták csigák óriás neuronjain 5HT applikálásakor (PAUPARDIN-TRITSCH és GERSCHENFELD 1973).

4. Az ion vezetőképesség változás bioaktív anyagok hatására

Mai elképzelések szerint bioaktív anyagok hatása az előzőekben vázolt séma szerint valósul meg, akár neuron-neuron kapcsolatról, akár ideg-izom kapcsolatról beszélünk. A hatás alapja membránszinten mindig permabilitás

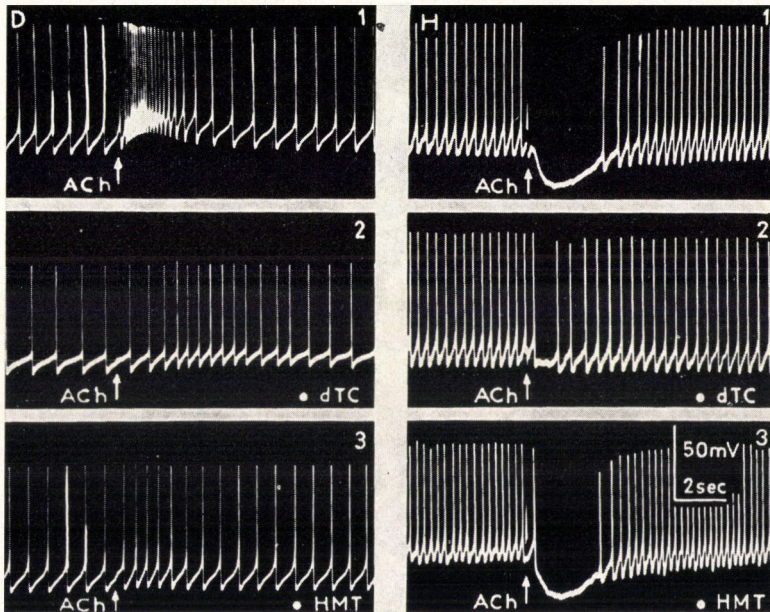
változás, valamely ionra nézve. Ennek legegyszerűbb formája, amikor a transzmitter egyetlen receptorra hat, és így egyetlen ion mozgását befolyásolja, és vagy gátlást vagy serkentést okoz. Ennél azonban gyakran összetettebb hatást lehet megfigyelni, amikor is a transzmitter a posztszinaptikus membránon két különféle receptorra hat. Ez jellemző az ACh hatásra szinaptikus ganglionban, Renshaw sejteken és puhatestűek ganglionsejtjein. Ilyenkor kettős hatás van, mely hosszadalmasabb az anyagok egyfázisos hatásánál. Ez a kettős hatás azonban nem általános, kisszámú neuronra jellemző és alacsonyabbrendűeken gyakoribb.

A serkentő transzmitter membránhatását leírták gerincesek és Arthropodák vázizmán, emlősök szívmizában, macska és béka motoros neuronjain, béka szinaptikus ganglionsejtjein, valamint Molluskák számos központi neuronján. A gátló transzmitter membránhatásának vizsgálatára emlősök szívéen, motoros neuronjain és kérgi sejtjein, halak Mauthner sejtjein, Arthropodák izmain és Molluskák központi neuronjain került sor.

A vizsgálat alapja minden esetben az volt, hogy megállapították azt a MP értéket, amely mellett a szinaptikus válasz eltűnt, vagy megfordult, majd az „e” értékét különböző ionösszetételű oldatban, ill. a belső ionkoncentráció megváltoztatása után határozták meg, mely módot adott annak megállapítására, hogy a folyamatban mely ion, vagy ionok vesznek részt. Oki összefüggést mutattak ki számos esetben a transzmitter természete és az ion között, mely az aktivált szinaptikus membránon áthalad. Ugyanakkor azonban ugyanaz az anyag többfajta hatást is létrehozhat, attól függően, hogy milyen receptorokon hat. Vegyük pl. az acetilcholin, mely növelheti a Na^+ és K^+ vezetőképességét egyidejűleg, vagy szelektíven a Na-vezetőképességet (mint pl. vázizmokban), vagy csak a K-mozgást befolyásolhatja (mint emlős vázizmokban). E mellett az acetilcholin növelheti a Cl-vezetőképességet is, tehát nem kation szelektív anyag, s hatása nem korlátozódik csatorna megnyitásra sem, mivel a K-vezetőképességet csökkentheti is. E hatások feltehetően más-más receptorhelyekkel kapcsolatosak.

Több acetilcholin receptor jelenlétét igazolták gerincesek Renshaw sejtjein, szinaptikus ganglionsejteken, béka vázizmán (GINSBORG 1973), de a legismertebb példa Molluskák központi neuronjain ismeretes (TAUC és GERSCHENFELD 1961, KEHOE 1967, WACHTEL és KANDEL 1967). Úgy tűnik, hogy az utóbbi esetben az acetilcholin által létrehozott serkentés az Na-csatornán, a gátlás K- vagy Cl-csatornán át valósul meg. Az egyes választípusok specifikus blokkolók alkalmazásával jól elkülöníthetők (l. lejjebb).

A többfajta receptor és ionmechanizmus nem korlátozódik az acetilcholin hatására. GERSCHENFELD és munkacsoportja (l. GERSCHENFELD 1973) igazolták, hogy az 5HT legalább három eltérő tulajdonságú receptorra hathat Molluskák központi neuronjain, mely eltérő ionmozgásokat és fiziológiai változásokat eredményez.

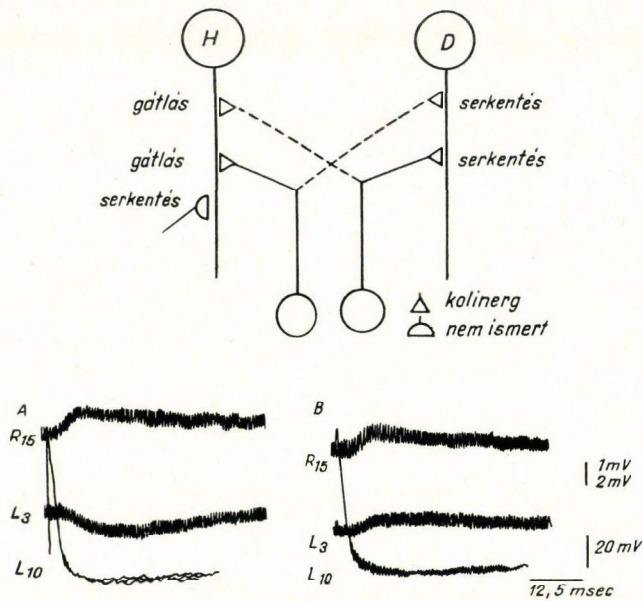


3. ábra. Acetilcholin hatása csiga központi idegrendszerének *D* és *H* sejtjeire, 1-ACh hatása *D* és *H* sejtken. 2-d-tubokurarin (10^{-4} g/ml) ACh effektust módosító hatása. 3 – hexamethonium bromid (10^{-4} g/ml) *D*-választ módosító hatása. *H*-effektust nem befolyásolja (TAUC és GERSCHENFELD 1961)

Az acetilcholin eltérő típusú válaszát *Aplysia* idegsejteken kiterjedten vizsgálták. Jól ismert, hogy *H*- és *D*-sejteket különítették el, annak megfelelően, hogy az adott neuronok az acetilcholinra gátlással vagy serkentéssel reagáltak (TAUC 1966, 1967). Az eredmények szerint (3. ábra) *D*-sejteken az ACh depolarizációt, míg a *H*-sejteken hiperpolarizációt és spontán kisülések blokkját hozza létre. Mindkét esetben 10^{-10} g/ml az ACh küszöbkoncentrációja. A d-tubokurarin mindkét típusú sejtben megszünteti az ACh hatását. Ez esetben ugyanaz az anyag gátol vagy serkent, a postszinaptikus membrán receptorainak tulajdonságaitól függően. A kolinerg receptorok különböző tulajdonságúak a *D* és *H*-sejteken, mivel a hexamethonium *D*-sejteken kivédi az ACh hatást, de *H*-sejteken nem.

Feltételezték (TAUC és GERSCHENFELD 1962), hogy ugyanannak az interneuronnal a szinaptikus végződésai serkentő hatást gyakorolhatnak a *D*-sejtre és gátlást a *H*-sejtre, s mindkét esetben ACh közbeiktatásával. *Aplysia viscerális ganglionjában* ezt igazolták is (4. ábra). Továbbiakban azt is bizonyították, hogy nemcsak a receptor területek, de az iontartalom is eltérő *D* és *H* sejtken esetén.

A *D*-sejteken az SPSP főként Cl-permeabilitás függő, de kisebb mértékben a Na-tól is függ, a *H*-sejteken az GPSP kizárólag a Cl-permeabilitás függvénye.

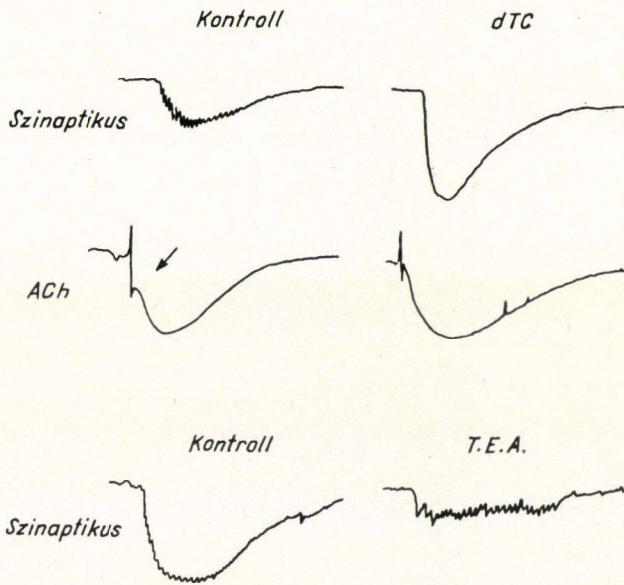


4. ábra. *Aplysia* központi idegrendszerében a *D* és *H* sejtek szinaptikus kapcsolatai. A *H*-neuron gátló, valamint a *D*-neuron serkentő bemenete kolinerger. A *H*-sejt serkentő transzmittere nem ismert. *A* és *B* — egy interneuron által kiváltott serkentő (SPSP) és gátló (GPSP) válasz két különböző „követő” sejten. A MP variálása kissé befolyásolja a SPSP-t és a GPSP megfordulását hozza létre (TAUC 1971)

Olyan példa is ismeretes, amikor az ACh több ion permeabilitását befolyásolja, de ez időben nem esik egybe. Az ilyenfajta gátlás csigák HILDA sejtjeire jellemző, melyeken az ACh hosszantartó hiperpolarizációt hoz létre, ami 30 percig is tarthat (5. ábra). Ez a fajta gátlás két fázisból tevődik össze; egy gyors kezdeti és egy kései, hosszú ideig tartó gátló fázisból. A két fázis eltérő ion-permeabilitás változás eredménye; az első fázisban Cl-permeabilitás változásnak, a másodikban K-permeabilitás változásnak van szerepe. Mindkét fajta változás ACh hatás eredménye, mely gyakran egyidejűleg jön létre, de a K-permeabilitás változás hosszabb időn át fennmarad. Farmakonokkal szemben a két fázis eltérő módon viselkedik; a d-tubokurarin szelektíven blokkolja a kezdeti gyors szakaszt, de nem befolyásolja a lassú fázist. A második fázist viszont tetraetilammónium blokkolja szelektíven (5. ábra).

Csigákban olyan sejt is található, ahol az ACh serkent is, gátol is, mert kétféle receptor van a sejtben: kis ACh koncentráció depolarizál, magas pedig gátol. Mindkét hatást kurare blokkolja. A serkentést itt Na-esatornán, a gátlás Cl-permeabilitás változás révén jut érvényre. Az ilyen sejtek gátló és serkentő innervációt kapnak motoneuronoktól (TAUC 1971).

Molluska sejtekre jellemző, hogy az ACh receptorok a szómán és az axon szinaptikus területein egyaránt megtalálhatók, de az 5HT és DA recep-

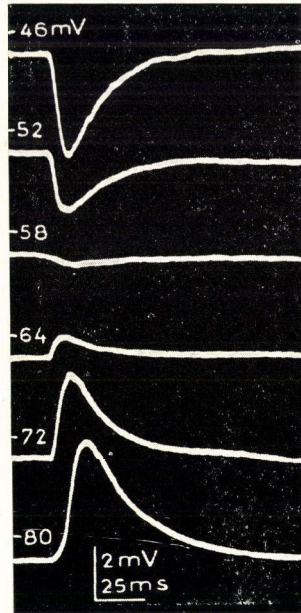


5. ábra. d-tubokurarin (dTC) és tetraetilammónium (TEA) hatása HILDA sejteken az ACh effektusra és szinaptikus hatásra (TAUC 1971)

torok itt is az axon szinaptikus területeire lokalizáltak. Bizonyították, hogy az eltérő ACh receptorok a sejt különböző területeire lokalizáltak. Az axonon a serkentő (depolarizáció), a sejttesten a gátló (hiperpolarizáció) receptorok találhatóak. Ez a térbeli organizáció szempontjából fontos (TAUC 1971).

Ma már elfogadottnak lehet tekinteni, hogy a serkentés és a gátlás ugyanannak a szinaptikus mechanizmusnak a két oldala. A Puhatestűek neuronjain kapott adatok egyértelműen igazolták, hogy ugyanaz a transzmitter (ACh) okozhat gátlást és serkentést is a posztzinaptikus receptorok természetétől és a posztzinaptikus sejt ion-tartalmától vagy az aktuális nyugalmi potenciálszinttől függően (6. ábra).

Az a kérdés mivel magyarázható, hogy ugyanaz a transzmitter képes serkentést, vagy gátlást, vagy mindkettőt kiváltani ugyanazon a neuronon. Ezt egyes esetekben két eltérő ACh receptor jelenlétével lehet összefüggésbe hozni. Azonban az ugyanazon neuronon található kolinerg receptor nem feltétlenül jelent külön, szeparált vagy eltérő struktúrájú molekulát. Nagyonis elképzelhető, hogy ugyanazon a receptor molekulán két ACh hely van, amelyek eltérő permeabilitás változásokat triggerelnek. A HILDA sejtek esetén különböző a receptor molekula, mert a két permeabilitás-csatorna csaknem egyidejűleg nyílik meg. Abban az esetben amikor az ACh bifázisos hatását a kuráre blokkolja, a kettős hatást egyetlen receptor molekuláris tulajdonságainak a változása magyarázza (TAUC 1970).



6. ábra. *Aplysia* H-sejtjén a gátló posztzinaptikus potenciál iránya, majd annak változása különböző MP szint mellett. A GPSP — 60 mV érték körül fordul meg, ami megfelel az adott transzmitter egyensúly potenciáljának (TAUC 1971)

A transzmitter hatás ionkoncentrációtól való függésére a D és H sejtek esetében feltételezik, hogy az ACh a Cl-permeabilitását befolyásolja. Mint-hogy D sejtek intracelluláris Cl-koncentrációja magasabb, H-sejteké alacsonyabb, a Cl-permeabilitás növekedése D-sejteken depolarizációt, H-sejteken hiperpolarizációt eredményez. Így az ACh hatás milyensége a sejt Cl⁻ koncentrációjának függvénye (TAUC 1971).

Molluskák receptoraiban az ionpermeabilitással kapcsolatos membrán effektusokat összevetették korábbi farmakológiai vizsgálatok során leírt választípusokkal. Megállapították, hogy az Na-csatornát aktiváló receptor a hagyományos nikotinerger receptorokhoz hasonló (pl. gerincesek szimpatikus ganglionjában), mivel mindkettőt hexamethonium, tubokurarin és atropin magas koncentrációi blokkolják. A Cl-csatorna farmakológiai viselkedése gerincesek neuromuskuláris szinapszisainak receptoraihoz hasonló. K-csatorna receptorainak farmakológiai analógját még nem találták meg, mert a hagyományos blokkolók közül csak metilxylochin és tetraetilammónium blokkolják (GINSBORG 1973).

Az aktuális nyugalmi potenciál-szint meghatározója a transzmitterre bekövetkező válasznak. Nevezetesen, ha a nyugalmi potenciál — mely a sejtek állapotától függően, vagy a milióttól függően — változik, akkor nagysága

a hatóanyag, pl. ACh, egyensúly potenciáljánál kisebb vagy nagyobb is lehet. Minden biológiailag aktív anyag úgy szabályozza a membrán permeabilitását, hogy jellemző egyensúlypotenciált állít be (6. ábra). Ha a nyugalmi potenciál ennél nagyobb volt, akkor a hatás depolarizáló irányú. Ha viszont az egyensúlypotenciál nagyobb, mint a nyugalmi potenciál, akkor a hatás eredménye hiperpolarizáció, vagyis gátlás lesz, annak megfelelően, ahogyan ezt ekvivalens áramkörrel is demonstráltuk (2. ábra).

Az a mechanizmus, amelyen keresztül a transzmitter által aktivált receptor képes megváltoztatni a posztszinaptikus membránnak valamely ionra a permeabilitását, még nem ismert. A receptor molekula konfiguráció változása direkt vagy indirekt úton hathat a permeabilitásra. Van olyan magyarázat is, hogy a membrán pórusok töltési viszonyai szabályozzák, van-e ion-vándorlás az adott pillanatban vagy nincs (RANG 1973).

A katecholaminok hatására általában jellemző a kettős effektus. Ennek megfelelően történt meg az adrenerg receptorok α és β -típusba sorolása. A kétféle receptoron megvalósuló fiziológiai hatás egymástól eltérő és feltételezik, hogy molekuláris vagy celluláris mechanizmusuk is különböző. Néhány katecholamin azonban mindkét receptorra hat. A katecholamin hatásának értékelésében különösen fontos, hogy olyan szöveteket vizsgáljanak, ahol csak az egyikféle receptor vesz részt a válasz kialakításában. Ezt úgy érhetik el, ha olyan katecholamint használnak, mely bizonyítottan csak az egyik fajta receptorra hat, vagy olyan szövetet választanak, melyben csak az egyik fajta receptor van jelen. Az egyik fajta receptort blokkolni is lehet, de ehhez nagyon specifikus blokkolókra van szükség.

A különböző sima izmok eltérő módon reagálnak a katecholaminokra. A sima izmok túlnyomó többségét a β -adrenerg anyagok elernyesztik, különösen α -adrenerg blokkolóval együtt adva, hogy a serkentő effektust elnyomják — és fordítva; az α -adrenerg anyagok rendszerint összehúzódot okoznak, különösen β -blokkolók jelenlétében, melyek az ernyesztő hatást megszüntetik. Ez alól az általános szabály alól a bél-izomzat kivétel, mely α és β -adrenerg anyag hatására egyaránt elernyed, a kontrakciós aktivitás gátlódik és az izom-membrán hiperpolarizálódik. Éppen ezért ezt az izomféleséget számos kutató használja a katecholamin hatásra fellépő ion-áramlás tanulmányozására (DANIEL és mtsai. 1970).

A katecholaminok hatásukat a membrán iontranszportjára különféle módon érvényesíthetik. Ezek:

1. a passzív permeabilitást változtatják meg,
2. ion-transzport (aktív-transzport vagy facilitált diffúzió) változást hoznak létre,
3. az ion-lekötést befolyásolják.

Ingerlékeny membránokon ez a háromfajta változás hozhat létre serkentést vagy gátlást. A különböző sejtekben emellett a katecholaminok be-

folyásolják a szénhidrát és zsíryanycserét (RALL és SUTHERLAND 1961), de hatásuknak ezzel az aspektusával itt nem foglalkozunk.

Az α -adrenerg anyagok hatására sima-izmokon a K-permeabilitás fokozódik. A megnövekedett K-permeabilitás felelős, legalábbis részben, a membrán ellenállásának csökkenéséért is (BÜLBRING et al. 1966, JENKINSON, MORTON 1967). Azonban a membrán ellenállás csökkenésében a Cl-permeabilitás növekedés is szerephez juthat, mert, ha a külső Cl-ionokat nem penetráló anionokra cserélik le, az adrenalin membrán ellenállást csökkentő hatása kiesik. A Cl-permeabilitás növekedés ez esetben depolarizációhoz és nem hiperpolarizációhoz vezet (V_{Cl} kevésbé negatív, mint MP).

Egyes szerzők azt is leírták, hogy az adrenalin növeli a Na-kiáramlás gyors és lassú fázisát, de mások ezt nem erősítették meg. Noradrenalin hatását a Cl-áramra sem igazolták (DANIEL et al. 1970). Ma még nem tudják elkülöníteni az α és β -receptorra ható anyagok hatásakor az ion-áramokat. A fenti kísérletekben mindkét receptorféleséget ingerelték. Úgy vélik, hogy a β -receptorokon zajló relaxációban nincs szerepe a megnövekedett K-permeabilitásnak. Feltételezték, hogy a taenia coli membránján a β -serkentés úgy gátolja a generátor potenciált és spontán spike képződést, hogy növeli a Ca-lekötést. A Ca-beáramlást az adrenalin nem befolyásolta, de növelte a Ca-kiáramlást.

A katecholaminok lehetséges hatását igerlékeny membránokon a 7. ábra foglalja össze. Az adatokból látszik, hogy mind a gátlás mind a serkentés megvalósulására több út lehetséges. Az itt felsorolt variációk elméletileg várható változásokat mutatnak, de ezek kísérletes bizonyítékai még nagyrészt hiányoznak.

A szívizmon is vizsgálták a katecholaminok ion-mozgásra kifejtett hatását. A szív főleg β -adrenerg receptorokat tartalmaz, melyeken a hatás realizálódásának eredményként:

1. azoknak a sejteknek a kisülési frekvenciája növekszik, amelyek pacemaker típusú potenciálokat termelnek,
2. a kontrakciók erőssége megnő.

Mindkét fajta hatást megszüntetik a β -antagonisták. A részlegesen depolarizált szívizomsejtekben a katecholaminok növelik a nyugalmi potenciál nagyságát. Ez a megnövekedett Na-pumpa aktivitás következménye, ami az AP felszálló szárának meredekségét, valamint a vezetési sebességet növeli. A katecholaminok többfajta hatását leírták a szív akciós potenciáljaira, úgy mint plató fázis megnyújtása vagy rövidebbé tétele, repolarizáció gyorsulása vagy lassúbbá válása (TRAUTWEIN 1973).

A katecholaminok által kiváltott potenciálképzés vagy az AP frekvenciájának növekedése a szívben az AP felszálló szárának gyorsulásával van összefüggésben (gyorsabb diasztolés depolarizáció). Az Na-permeabilitás növekedésének az eredménye a diasztolés depolarizáció sebességének növekedése

Katecholaminok hatása ingerlékeny membránokon

I. Gátlás hiperpolarizációval

a. K^+ permeabilitás növekedés

$$V_m \rightarrow V_K; M_K^i \uparrow; M_K^o \uparrow \text{ (} M_K^o \uparrow \text{ ha } V_m = 0 \text{)}$$

$$\Omega_m \downarrow$$

b. Elektrogén Na^+ -pumpa aktivitás növekedés ($M_{Na}^o \uparrow$)

$$V_m \uparrow \text{ a } V_K \text{-hoz viszonyítva; } M_K^i \uparrow; M_K^o \downarrow$$

$$\Omega_m ?; \text{ a } K_o, Na_i, \text{ ATP, ATPaz függvénye}$$

II. Gátlás hiperpolarizáció nélkül: $V_m = 0$ vagy \leftrightarrow

a. Megnövekedett Ca-lekötés,
vagy csökkent Ca-beáramlás

III. Serkentés depolarizációval

a. Na^+ permeabilitás növekedés

$$V_m \rightarrow V_{Na}; M_{Na}^i \uparrow; M_K^o \uparrow M_K^i \downarrow, \text{ stb.}$$

$$\Omega_m \downarrow \text{ (a } P_K \text{ is növekedhet)}$$

b. K^+ permeabilitás csökkenés

$$V_m \downarrow \text{ a } V_K \text{-hoz viszonyítva; } M_K^i \downarrow; M_K^o \uparrow \text{ (} M_K^o \downarrow \text{ ha } V_m = 0 \text{)}$$

$$\Omega_m \uparrow$$

c. Elektrogén Na^+ -pumpa aktivitás csökkenés
(az I.b. ellentéte)

IV. Serkentés depolarizáció nélkül: $V_m = 0$ vagy \leftrightarrow

a. Csökkent Ca-lekötés,
vagy megnövekedett Ca-beáramlás

7. ábra. Katecholaminok hatásának lehetséges újai membránfelszíneken. $V_m = MP$, $V_x =$ valamely anyag egyensúlypotenciálja, M_{Na}^o, M_K^i stb. aktív ionáramok. A nyilak a folyamat irányát jelölik

és a kontrakciók gyakoribbá válása. A csökkent K -permeabilitás (mivel $V_K > MP$) vagy a csökkent Na -pumpa aktivitás is magyarázhatja a katecholaminok ilyen hatását (7. ábra). Nyugvó szívizomban az adrenalin csökkentette a Purkinje rostok nyugalmi potenciálját (DANIEL et al. 1970, TRAUTWEIN 1973).

A noradrenalin és adrenalin nyúl pitvaron növelik a K^+ be- és kiáramlását; a beáramlást nagyobb mértékben, de ez utóbbi lehet a megnövekedett Na -pumpa indirekt hatása is. Nyugalmi és aktív szíven ugyanazt az eredményt kapták, ezért nem beszélhetünk megváltozott ionmozgásokról az AP idején. Az adrenalin szívizomban csökkenti a Ca -beáramlást, de a kilépést nem. A noradrenalin a Ca^{2+} mindkét irányú mozgását befolyásolja. Az adrenalin itt is hathat a Ca^{2+} tárolásra és felszabadulásra, a 7. ábrán ismertett módon (DANIEL et al. 1970).

A felsorolt adatok azt bizonyítják, hogy a bioaktív anyagok uniformizált (gátlás vagy serkentés) hatása mögött eltérő ionmozgások rejtőznek. Vannak azonban általános törvényszerűségek az anyagok membrán hatásában. Ilyenek:

1. Ha a bioaktív anyag megtartja vagy növeli a MP értékét, akkor nem hathat a Na-csatorna megnyitása révén, mert ehhez depolarizálnia kellene a membránt.

2. A K- vagy Cl-csatorna kinyitása viszont mindig az MP adott értéken való tartásához, vagy pedig a membrán hiperpolarizálásához vezet, a nyugalmi Na-permeabilitás mértékétől függően.

3. A nagy Na-permeabilitással bíró membránokon (sima izom) a gátló transzmitter úgy hat, hogy hiperpolarizációt hoz létre a K-permeabilitás szelektív növelésével, melynek következtében a MP közel kerül a K-egyensúly potenciál (E_K) értékéhez.

4. Az elektrogén Na-pumpa az anyagcsere energiáját használja fel és Na- valamint Cl-permeabilitás változások eredményeként gátló hatásokért felelős.

5. A catecholaminok hatása attól függ, hogy milyen receptorokon hatnak. β -receptorokon legtöbb esetben hiperpolarizálnak, minthogy fokozzák a membrán K-permeabilitását. A β -receptorokon ható catecholaminok nem változtatják meg a membrán K- és Cl-permeabilitását, hanem Ca-lekötés vagy felszabadítás révén hozzák létre a fiziológiai változásokat.

A hatások sokfélesége biztosítja az idegrendszer működésében azt a bázist, melynek alapján a beérkezett információk eldifferenciálhatók. Így egy sejten is lehet több hatóhely (Molluskák HILDA sejtjei), vagy ugyanaz a sejt működhet kétféle transzmitter felhasználásával is. Az egymás mellett lévő információs csatornák működésében így igen széles variációs lehetőség rejlik.

A pacemaker működésű sejtek vagy szervek (szív) működésének értelmezése nehezebb, mert több funkció szimultán megértését tételezi fel.

IRODALOM

- BULBRING, E., GOODFORD, P. J., SETEKLEIV, H.: The action of adrenaline on the ionic content and on the sodium and potassium movements in the smooth muscle of the guinea pig taenia coli. — *Brit. J. Pharmacol.* **28**, 296—307 (1966).
- DANIEL, E. E., PATON, D. M., TAYLOR, G. S., HODSON, B. J.: Adrenergic receptors for catecholamine effects on tissue electrolytes. — *Federation Proc.* **29**, 1410—1425 (1970).
- FATT, P., KATZ, B.: An analysis of the end-plate potential recorded with an intracellular electrode. — *J. Physiol.* **115**, 320—369 (1951).
- FLOREY, E.: Neurotransmitters and modulators in the animal kingdom. — *Federation Proc.* **26**, 1164—1178 (1967).
- GERSCHENFELD, H. M.: Chemical transmission in invertebrate central nervous system and neuromuscular junctions. — *Physiol. Rev.* **53**, 1—92 (1973).
- GINSBORG, B. L.: Electrical changes in the membrane in junctional transmission. — *BBA* **300**, 289—317 (1973).
- JENKINSON, D. H., MORTON, I. K. M.: The effect of noradrenaline on the permeability of depolarized intestinal smooth muscle to inorganic ions. — *J. Physiol.* **188**, 373—386 (1967).
- KEHOE, J. S.: Pharmacological characteristics and ionic bases of a two component postsynaptic inhibition. — *Nature* **215**, 1503—1505 (1967).

- KOVÁCS, T.: Az ingerületvezető membránok iontranszportjának vizsgálata. ; „Biológiai membránok és transzport folyamatok.” — A MTA Biológiai Kutatóintézetében (Tihany) rendezett membrán transzport konferencián elhangzott előadások kézírata, pp. 31—57 (1973).
- NISHI, S., KOKETSU, K.: Electrical properties and activities of single sympathetic neurons in frogs. — *J. cell. comp. Physiol.* **55**, 15—30 (1960).
- PAUPARDIN-TRITSCH, D., GERSCHENFELD, H. M.: Transmitter role of serotonin in identified synapses in *Aplysia* nervous system. — *Brain Res.* **58**, 529—534 (1973).
- RALL, T. W., SUTHERLAND, E. W.: The regulatory role of adenosine 3',5'-phosphate. — *Cold. Spring Harbor Symp.* **26**, 347—354 (1961).
- RANG, H. P.: Receptor mechanisms. — *Br. J. Pharmac.* **48**, 475—495 (1973).
- SALÁNKI, J.: Sejtmembránok elektrofiziológiai vizsgálata. — *MTA Biol. Oszt. Közl.* **11**, 385—407 (1968).
- TAKEUCHI, A., TAKEUCHI, N.: Active phase of frog's end-plate potential. — *J. Neurophysiol.* **22**, 395—411 (1959).
- TAUC, L.: Physiology of the nervous system. — In: *Physiology of Mollusca*. Eds. Wilbur, K. M., Yonge, C. M., Acad. Press, N. Y. (1966).
- TAUC, L.: Transmission in invertebrate and vertebrate ganglia. — *Physiol. Rev.* **47**, 522—593 (1967).
- TAUC, L.: Transmission action on synaptic neuronal receptor membranes. — In: *Principles of receptor Physiology*, Ed. Loewenstein, W. R., Springer-Verlag, Berlin (1971).
- TAUC, L., GERSCHENFELD, H. M.: Cholinergic transmission mechanisms for both excitation and inhibition in molluscan central synapses. — *Nature* **192**, 366—367 (1961).
- TAUC, L., GERSCHENFELD, H. M.: A cholinergic mechanism of inhibitory transmission in a molluscan nervous system. — *J. Neurophysiol.* **25**, 236—262 (1962).
- TRAUTWEIN, W.: Membrane currents in cardiac muscle fibers. — *Physiol. Rev.* **53**, 793—836 (1973).
- WACHTEL, H., KANDEL, E. R.: A direct synaptic connection mediating both excitation and inhibition. — *Science* **158**, 1206—1208 (1967).