

B3438

D O K T O R I   É R T E K E Z É S

A KATEKOLAMIN SZENZITIV RECEPTORFUNKCIÓK VIZSGÁLATA INTAKT  
MAGVAS VÖRÖSVÉRSEJTEKEN

Készítette: Gálfi Márta

Készült a SZOTE Ideg- és Elmegyógyászati Klinikán



Szeged

1983

## TARTALOMJEGYZÉK

	Oldal
<b>Bevezetés</b>	
A magvas és humán vörösvérsejtek összehasonlítása, valamint transzportfolyamataik ismertetése.....	2
Pszichofarmakonok jellemzése.....	11
A noradrenerg tarszmisszió és a pszichotroop szerek hatásmechanizmusa.....	15
A lítium-ion transzport.....	20
A magvas vörösvérsejtek, mint modellrendszerek.....	24
<b>Célkitűzés.....</b>	<b>28</b>
<b>Módszerek.....</b>	<b>30</b>
Vörösvérsejtek izolálása.....	30
A $K^+$ -ion transzportjának vizsgálata.....	30
A cAMP koncentrációjának meghatározása kompetitív-binding módszerrel.....	32
Kötőfehérje preparálása cAMP meghatározásához.....	34
A Hemoglobin tartalom meghatározása.....	35
$Li^+$ koncentráció meghatározása.....	36
<b>Anyagok, eszközök.....</b>	<b>38</b>
<b>Eredmények:</b>	
A lítium ionok hatása a noradrenalin aktivált cAMP szintek és a noradrenalin stimulált $K^+$ iontranszport változásaira.....	39
A neuro- és thimoleptikumok hatása a katekolamin szenzitív $^{86}Rb$ felvételre és a cAMP szintekre.....	43
A lítium-pszichofarmakon interakció vizsgálata a $\beta$ -adrenerg receptorhoz kapcsolt noradrenalin stimulált $^{86}Rb$ felvételre, valamint a cAMP szint változásaira.....	47
<b>Megbeszélés, következtetések.....</b>	<b>52</b>
<b>Irodalomjegyzék.....</b>	<b>60</b>

## Köszönetnyilvánítás

Köszönetet mondok Dr. Szilárd János tanszékvezető egyetemi tanár úrnak, a SZOTE Ideg- és Elmeagyógyászati Klinika igazgatójának, Dr. Domonkos Jenő egyetemi tanár úrnak, az Ideg- és Elmeagyógyászati Klinika kutató laboratórium vezetőjének, hogy lehetőséget biztosítottak munkám zavartalan elvégzéséhez.

Szeretném megköszönni a gyakorlati munka és az elméleti felkészülés során nyújtott lelkiismeretes segítséget Dr. Rimanoczy Ágnes és Dr. Szentistványi István témavezetőimnek.

## BEVEZETÉS

Az iontranszport vizsgálatára minden sejtes elem alkalmas. A vér alkotó elemei közül különösen jó modellt szolgáltat a vörösvérsejt.

Szervezetünk leginkább specializált szövete a vér, amely szállító funkciót lát el. Tápanyagokat szállít a bélből a májba; szerves melléktermékeket és ásványi anyagokat a veséhez, valamint oxigént szállít a tüdőből a szövetekbe és eltávolítja onnan a széndioxidot; hormonokat és kémiai hírvivőket szállít az endokrin mirigyekből a célszervekhez (1).

Összetételét tekintve a vérnek közelítőleg fele sejtes elem. A sejtes elemek közül túlnyomó többségben a vörösvérsejtek vannak. A szerkezet nélküli emlős vörösvérsejtek egyetlen szerkezeti elemének a plazmamembránt kell tekintenünk. Ezzel szemben a madár vörösvérsejtek magvasak, eukariota sejtek. Méretük, alakjuk is eltér az emberi vörösvértestektől, nagyobbak az utóbbiaknál, és lapos ovális alakú sejtek. Szubcelluláris szerkezeti elemeik közül a legnagyobb a sejtmag, amely a sejt térfogatának 10-30%-át teszi ki, benne kondenzált kromoszómák találhatóak, és külső valamint belső membrán veszi körül. A magvas madár vörösvérsejtben találhatóak mitokondriumok, melyek száma a sejt életkorával változik. (Az érett eritrocitákban kevesebb mitokondrium figyelhető meg.)

A citoskeleton részei a mikrotubulusok, míg a fibrilláris strukturák a plazmamembránnal a sejtmaggal,

vagy a mitokondriumokkal asszociálva figyelhető meg; szerepük a setjelemek helyükön tartása, és a sejtfalak fenntartása.

A magvas vörösvérsejtek plazmamembránja hasonló összetételű az emberi vörösvértestekéhez: kimutatható a szialinsav; van  $\text{Na}^+$ - $\text{K}^+$ -ATPáz aktivitása, mely quabainnal gátolható; van  $\text{Mg}^{2+}$ -ATPáz enzime, és a membránokon antigének vannak lokalizálva.

A humán vörösvértesttel ellentétben adenil-cikláz aktivitást mutat, valamint  $\beta$ -adrenerg receptorral rendelkezik.

Anyagcsere folyamataikat tekintve az emlős vörösvértestekben a glikolízis dominál, miután a csontvelőből készen lökődnek ki, nincs bennük fehérje-, aminosav-, és zsírsav-szintézis.

Madár vörösvérsejtekben fehérje szintézis folyik, melynek sebessége a sejt korával fordítottan arányos. Az energiatermelő folyamatok közül a glikolízis mellett a pentózfoszfát ciklus és a citrátciklus működik, ezek teljes enzimmészlete megtalálható a sejtben.

A glükóz permeabilitása kisebb, mint az emberi vörösvértesteken. A madár vörösvérsejtek mégis hasznos, és gyakran alkalmazott modellt jelentenek, amennyiben a légzés, a sejt energiaszintjének és glükóz transzportjának összefüggéseit kívánjuk tanulmányozni. A glükóz transzportja a humán vörösvértesttel egyező módon, karrier-mediált passzív transzport folyamat.

Mediált transzportról beszélünk, ha a transzport rendszernek specifikus helye van a transzportálandó

anyag megkötésére. Ez rendszerint fehérje a sejtmembránban, amely reverzibilisen köti a transzportálandó molekulát. Passzív-mediált transzport rendszert képvisel az emberi vörösvértest glükóz transzportáló rendszere. A transzport sebessége az extracelluláris glükózkoncentráció emelkedésével fokozódik, a rendszer specifikusan D-monoszacharidokat transzportál (az egyes cukrokra más-más  $K_M$ -mel), és a transzport floretin szenzitív.

Az aminosavak felvétele mind a vörösvértestben mind a vörösvérsejtben egyező mechanizmus szerint történik; aktív transzport útján.

Aktív transzport rendszerekről beszélünk, ha termodinamikai értelemben a rendszer a transzport folyamat során szabad energiát nyer. Az ilyen folyamatok energia befektetését igényelik, energia felhasználását feltételezik. Ilyen rendszer a  $\text{Na}^+$ - $\text{K}^+$ -ATPáz enzim (E.C.3.6.1.3.) által képviselt  $\text{Na}^+$ - $\text{K}^+$ -pumpa, melynek szerepét és működését vörösvértestek esetén a későbbiekben ismertetem. Aktív transzport folyamat révén transzportálódik a glükóz a vékonybélben.

A vesetubulusokban a  $\text{Na}^+$  gradiens irányú mozgása van összekapcsolva a glükóz molekulák mozgásával. Az ilyen jellegű transzportot ko-transzportnak nevezzük. Hasonló módon, ko-transzport révén történik az aminosavak transzportja is. A transzporthoz szükséges energiát mindkét esetben a  $\text{Na}^+$ -gradiens energiája szolgáltatja, és a  $\text{Na}^+$ -gradiens iránya szabja meg a

transzport irányát. Az egy irányban mozgó partnerek együtt lépik át a membránt szimultán, vagy konszekutív módon.

Hasonló mechanizmussal történik az anyagok countertranszportja is, azzal az eltéréssel, hogy itt az összekapcsolt transzport folyamatok ellentétes irányúak. Így történik pl. a lítium ( $\text{Li}^+$ ) kiáramlása emberi vörösvértestekből koncentrációgradiens ellenében. Ilyenkor a  $\text{Li}^+$  a külső  $\text{Na}^+$ -al mozog countertranszportban, a sejtből kilépő  $\text{Li}^+$  helyére  $\text{Na}^+$  lép. A folyamat formálisan  $\text{Li}^+ \rightarrow \text{Na}^+$  csere. A  $\text{Na}^+$ -ion koncentrációgradiens energiája rovására mozog a  $\text{Li}^+$ -ion a koncentrációgradienssel szemben. Ezeknek a folyamatoknak a hajtó erejét közvetve a  $\text{Na}^+$ - $\text{K}^+$ -pumpa szolgáltatja, mely gondoskodik a sejtbe bejutott  $\text{Na}^+$ -ionok eliminálásáról. Mind a humán, mind pedig a madár vörösvérsejtekbe számos anyag passzív transzport útján jut be.

A passzív transzport folyamatok során az anyagok a koncentrációgradiens irányába mozognak, és a folyamat során a rendszer szabad energiát veszít. A folyamat lehet mediált, vagy nemmediált. A nemmediált transzport folyamatok formálisan diffúzióknak tekinthetők, a transzport sebessége a koncentráció különbségétől függ. A transzportálódó molekula csak diffúzióval mozog a koncentrációgradiens irányába, kémiai módosulást nem szenved és nem kapcsolódik más molekulával.

A vörösvértestek, mint minden élő sejt, környezetükkel szemben egyenlőtlen ioneloszlást tartanak fenn, ez az



egyenlőtlen ioneloszlás azonban állandó, steady-state intracelluláris ionmennyiséget jelent, mely széles határok között független a külső környezet ionkoncentrációjától. Humán vörösvértestekre és madár vörösvérsejtekre egyaránt jellemző a magas intracelluláris  $K^+/Na^+$  arány, melyet a sejt csak energia felhasználása révén képes fenntartani. Az energia az ATP bontásából származik, melyet a sejt membránjában található  $Na^+-K^+-ATPáz$  enzim (E.C.3.6.1.3.) végez.

Ma már részletesen ismerjük a folyamat sztöchiometriai jellemzőjét. 1 mol ATP hidrolízise 2 mol  $K^+$ -ot akkumulál a sejtben, miközben 3 mol  $Na^+$  távozik a sejtéből.

A  $Na^+-K^+-ATPáz$  enzim transzmembrán helyzetű, működése vektoriális jellegű: az intracelluláris  $Na^+$  koncentráció-, az extracelluláris  $K^+$  koncentráció csökkenés aktiválja az enzimet.

Az enzim  $K^+$  kötőhelye kívül, a  $Na^+$  és ATP kötőhelyek intracellulárisan helyezkednek el. Az enzim működését a quabain (G-strofantin) nevű szívglükozid szelektíven bénítja (Kaczmarek és Mtsai 1980). Az enzim alegyszerszerkezete is ismert.

Az iontranszport szabályozásának érdekes esete a "Gárdos effektus", melyet először emberi vörösvértestekben figyeltek meg (Gárdos, 1954), de később igazolták, hogy neuronokon is létrejön (Meech 1976). Lényege, hogy az intracelluláris szabad  $Ca^{2+}$

koncentráció megnövekedése szelektív  $K^+$  kiáramlást eredményez.

Ezáltal a  $Ca^{2+}$ -ionkoncentrációját szabályozó mechanizmusok kapcsolatban vannak a  $K^+$  mozgásával, ez különösen eukarióta sejtek esetében jelentős, ahol a  $Ca^{2+}$  koncentrációját a szubcelluláris partikulák által képviselt  $Ca^{2+}$  poolok együttesen kontrollálják. A  $K^+$  mozgásához a sejtmembránban egy külön "csatornát" rendelhetünk, és a membrán belső környezetében bármely okból (a  $Ca^{2+}$ -pumpa gátlása, a sejtek ATP depléciója,  $Ca^{2+}$  mobilizáció az intracelluláris rezervoárokból) megjelenő szabad  $Ca^{2+}$  ionok ezt a "csatornát" nyitják meg, ennek eredménye a szelektív  $K^+$  kiáramlás.

Miután ismeretes, hogy a  $Ca^{2+}$  és a cAMP (3'-5'-ciklikus adenzin-monofoszfát) egymás szintjét kölcsönösen kontrollálják (Rasmussen 1970), és hogy az intracelluláris cAMP tartalom megváltozását a sejt  $Na^+$  és  $K^+$  permeabilitásának megváltozása kíséri (Gardner, 1973, 1974), így az Adenil-cikláz Enzim (E.C.4.6.1.1.) közvetve szerepet játszik a  $K^+$  illetve  $Na^+$  mozgások szabályozásában.

Egyes esetekben erre a mechanizmusra a  $Na^+-K^+$ -pumpától független élettani szabályozó rendszer épül. Ilyen a madár vörösvérsejtek térfogat szabályozó rendszere, amely katekolamin szenzitív mechanizmus. A madár vörösvérsejt hormon hatásra regulálni képes saját izoozmotikus partikuláinak számát (azaz a sejt  $Na^+$  és  $K^+$  tartalmát).

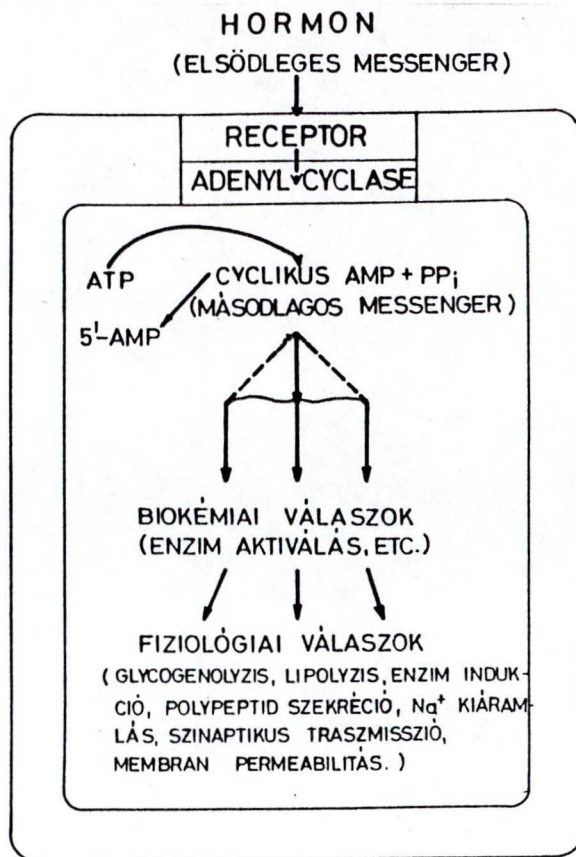
In vitro körülmények között anizotoniás médiumban kezdeti duzzadás (hipotoniás médium) vagy zsugorodás (hipertóniás médium) után a sejtek képesek visszanyerni eredeti alakjukat a fennálló anizotonia ellenére. Ez a térfogat szabályozó képesség quabain rezisztens, jelezvén, hogy a mechanizmus a  $\text{Na}^+$ - $\text{K}^+$ -pumpától független.

A sejt duzzadása kontrollált  $\text{K}^+$  felvételt, és ezt követő  $\text{Cl}^-$  és vízfelvételt jelent, melyet noradrenalin alkalmazása a médiumban ugyancsak létrehoz (Kregenow, 1977).

A 3'-5'-ciklikus-adenozin-monofoszfát (cAMP) közvetítő hatásának felismerése magyarázhatóvá tette a polipeptid hormonok biokémiai vizsgálatában korábban vitatott kérdést, hogy a polipeptid hormonok - melyeknek sejtbe való bejutásáról nem rendelkezünk bizonyítékkal - hogyan fejtik ki regulációs tevékenységüket.

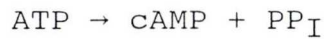
Ahhoz, hogy a hormon által közvetített információ a sejtben mint meghatározott biokémiai folyamat realizálódjon, a hormonnak (H) a sejtmembránon levő receptoron (R) kell megkötődnie. A H-R kötődés eredményeképpen létrejött változás jelenti az információt a sejtbeni biokémiai, élettani folyamatok beindításához.

A Sutherland által "kétlépcsős messenger rendszer"-nek nevezett mechanizmust az első ábra szemlélteti.



1. ábra A "kétlépcsős messenger rendszer" sémás vázolata.

Az "elsődleges hírvivő" maga a hormon a receptoron megkötődik, és a sejt membránjában helyet foglaló Adenil-cikláz Enzim aktiválja. Az Adenil-cikláz Enzim több komponensű, makromolekuláris fehérje. Egyik alegysége rendelkezik katalitikus aktivitással, az



reakciót katalizálja, a fennmaradó alegységek a különböző hormonok számára fenntartott specifikus receptorfehérjék.

Amíg a receptorfehérjék biztosítják a sejt specificitását; azt, hogy egy adott sejt csak egy bizonyos hormon hatása alatt működik; addig az előző reakció minden sejtben azonos eredményre vezet, nevezetesen cAMP képződésre, amelyet "másodlagos hírvivő"-nek nevezünk.

Az intracelluláris cAMP-ot a foszfodieszteráz enzim (E.c.3.1.4.13.) 5'-AMP-tá bontja, így a sejt intracelluláris cAMP szintjét két ellentétesen működő enzim szabályozza.

## Pszichofarmakonok jellemzése

Pszichofarmakonok vagy pszichotróp szerek azok az anyagok, amelyek a normális és kóros elmeműködést befolyásolják. A pszichiátriai betegségek kezelésének fontos eszközei, az elmebetegségek tüneteit előnyösen befolyásolják.

Az alábbiakban ismertetem a vizsgálataink során alkalmazott pszichofarmakonok klinikai alkalmazását, hatásmechanizmusát és bemutatom ezek szerkezeti képleteit (2-6. ábra).

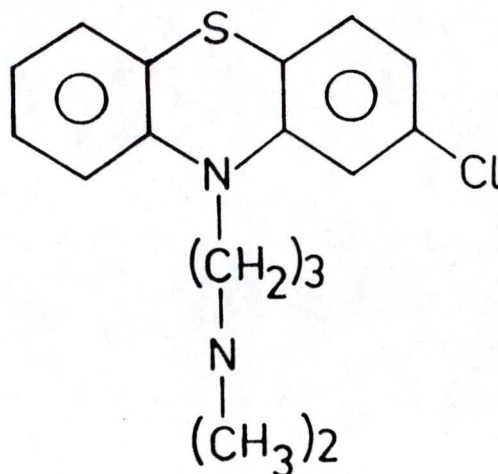
### 1./ Neuroleptikumok

Nyugtató hatású szerek. Jellegzetes módon befolyásolják a magatartást, hatásukra csökken a központi idegrendszer érzékenysége a külső ingerekkel szemben, csökken az érdeklődés, közömbösség alakul ki. A pszichózisban szenvedő, hallucinációk és téves eszmék által izgalomba hozott betegre már kis dózisokban is erős nyugtató hatást fejtenek ki. Magát a pszichotikus betegséget nem szüntetik meg, de alkalmazásuk mellett a beteg kezelhetőbb lesz, hozzáférhetőbbé válik az ápolási feladatok számára.

A hatásmechanizmusuk felderítését célzó biokémiai vizsgálatok kimutatták, hogy a hipotalamuszban, bazális ganglionokban és a limbikus rendszerben a receptor-felszínt elfoglalva gátolják a dopamin receptorokat, valamint kismértékben gátolják a preszinaptikus vezikulákba történő ingeranyag felvételt és fokozzák a dopamin anyagcserét.

Katekolamin-antagonista hatásuk is ismeretes.

A fenotiazinok a legjellegzetesebb, legfontosabb képviselőjének, a Klorpromazinnak (védett néven Hibernal, 2. ábra) a hatását vizsgáltuk.

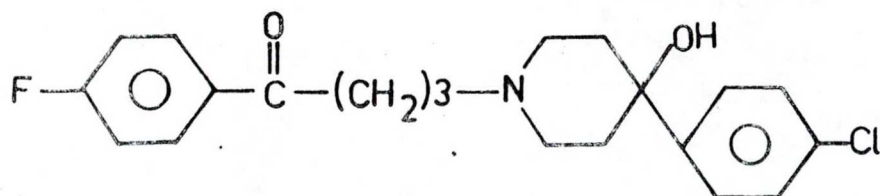


Nemzetközi név: Klorpromazin

Védett név: Hibernal

2. ábra: Hibernal szerkezete

Butirofenonok (védett néven Haloperidol, 3. ábra) a tartós neuroleptikus hatású szerek csoportjába tartozó származékok.



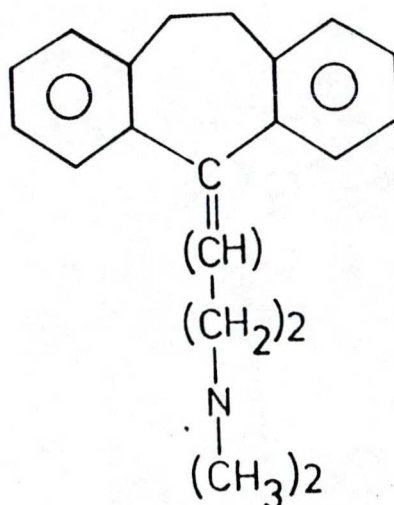
Nemzetközi név, védett név: Haloperidol

3. ábra

## 2./ Timoleptikumok

Az antidepresszív szerek csoportjába tartozó triciklikus antidepresszánsok, melyek a normális ingerlékenységű központi idegrendszert terápiás dózisban nem befolyásolják, viszont depressziós állapotban tartós, izgató, energetizáló hatást fejtenek ki. Előnyös hatást gyakorolnak az alaphangulatra és a magatartásra. A depresszió terápiájában ma kizárólag ezek a szerek kerülnek alkalmazásra. Ezek közül némelyek aktiválnak, mások nyugtatnak, így a szert a kezelendő depresszió típusa szerint választják meg.

Az Amitriptilin (hazai gyári neve: Teperin, 4. ábra) nyugtató hatású timoleptikum, mely izgatottsággal, szorongással járó depressziók esetében alkalmazható sikerrel.

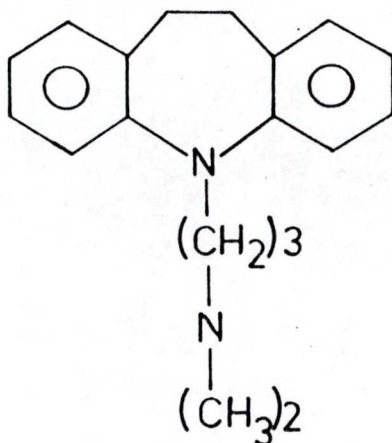


Nemzetközi név: Amitriptilin  
Védett név: Teperin

4. ábra: Teperin szerkezete



Az Imipramin (hazai gyári neve: Melipramin, 5. ábra) a kezdeti nyugtató hatás után a hangulat emelkedését idézi elő. Iníciatíva szegény depressziók esetében alkalmazzák.



Nemzetközi név: Imipramin  
Védett név: Melipramin

5. ábra: Melipramin szerkezete

## A noradrenerg transzmisszió és a pszichotróp szerek hatásmechanizmusa

A hangulat javítása, a centrális szinapszisok receptorainál felszabaduló szerotoninnak;

a késztetés fokozása a noradrenalin (NA) koncentrációk emelkedésének tulajdonítható (Szekeres, 1980).

A neuro- és timoleptikus hatású gyógyszerek hatásmechanizmusának ismertetése előtt szükséges, hogy a noradrenerg transzmisszió néhány eseményét tárgyaljuk.

Ismeretes 1946-tól, hogy a noradrenalin az a neurotranszmitter, amit emlős szimpatetikus sejtek, release-elemek bocsájtanak ki.

Mivel nagy a koncentrációja az agy specifikus területein, feltételezték, hogy ez az amin szerepet játszik a neurotranszmisszióban. Kb. 20 éve azt találták, hogy a NA és az adrenalin (A) főbb lebontási terméke a vizeletben a MHPG. Ez a megfigyelés vezette Axelrodot arra, hogy egy enzimet feltételezzen, amely a katekol-aminokat O-metilálná. Ez az enzim lett a Katekol-o-metiltranszferáz (COMT). Trícium jelzett katekolaminok bevezetésével a keringő aminok sorsa rövidesen tisztázódott, de világossá vált, hogy az idegvégződéseken szabaddá váló noradrenalin-hatás leállításának fő útja annak visszavétele a szimpatikus idegbe.

Szubcelluláris eloszlási és elektronmikroszkópos tanulmányok kimutatták, hogy a katekolaminok a

szimpatikus neuronok denseure vezikuláiban találhatóak. Farmakológiai tanulmányok igazolták, hogy intraneuronálisan a monoaminoxidáz metabolizálja a katekolaminokat (KA), de azokat a KA-kat, amelyek a keringésbe jutnak, a COMT metabolizálja.

Leírták a KA-ok bioszintézisét végző enzimeket, bizonyították, hogy az idegstimuláció által kiváltott KA release-t a KA-ok megnövekedett képződése kíséri.

A kutatások főleg a preszinaptikus folyamatok, postszinaptikus események és az ezáltal kiváltott, vagy módosított események tanulmányozására irányultak.

#### a./ Preszinaptikus események

Megállapították, hogy a megnövekedett adrenerg neuronális aktivitást, a NA szintézis növekedése kíséri.

A NA bioszintézisét Löwenberg, az enzimszintek növekedését Corta tárgyalja. A bioszintetikus enzimek a sejttestben vannak és az axon mentén transzportálódnak az idegvégződéshez. A raktározó vezikulák szintén a sejttestben találhatóak, és gyorsan transzportálódnak egy, a mikrotubulusoktól függő folyamattal az axon mentén.

A neurotranszmitterek releaset exocitózishoz rendeljük, egy olyan folyamathoz, amelyben a vezikuláris membrán összeolvad a plazmamembránnal, és a vezikula tartalma (1. dopamin- $\beta$ -hidroxiláz DBH; 2.



proteinek, melyek a katekolaminokat kötik, 3. ATP, 4. NA) kiürül.

A DBH megjelenése a plazmában nagyszámú klinikai vizsgálatot eredményezett, amelyek megpróbálták a DBH plazmaszinteket a szimpatikus neuronális aktivitáshoz rendelni. Emberben igen nagy egyéni variabilitás van a DBH szintekben és ez úgy tűnik genetikai kontroll alatt áll, ezért nem lehetett jó indexeket meghatározni a plazma DBH mérésével.

Az, hogy az aminok release preszinaptikus kontroll alatt áll, lehetővé teszi az elégedett transzmitter mennyiségének szabályozását a már szinapszisban levő mennyiségtől függően. Az adrenerg neuronok amin felvételének nem specifikus volta bizonyos neurotoxikus anyagok felszaporodásához vezet az idegvégződéseken. Kémiai adrenerg denerváció érhető el az idegvégzódések ily módon való elroncsolódása révén.

Az egyik ilyen anyag a 6-hidroxidopamin értékes farmakológiai eszköznek bizonyult a noradrenerg, dopaminerg neurondeficitek hatásainak tanulmányozásában.

#### b/ Posztszinaptikus események

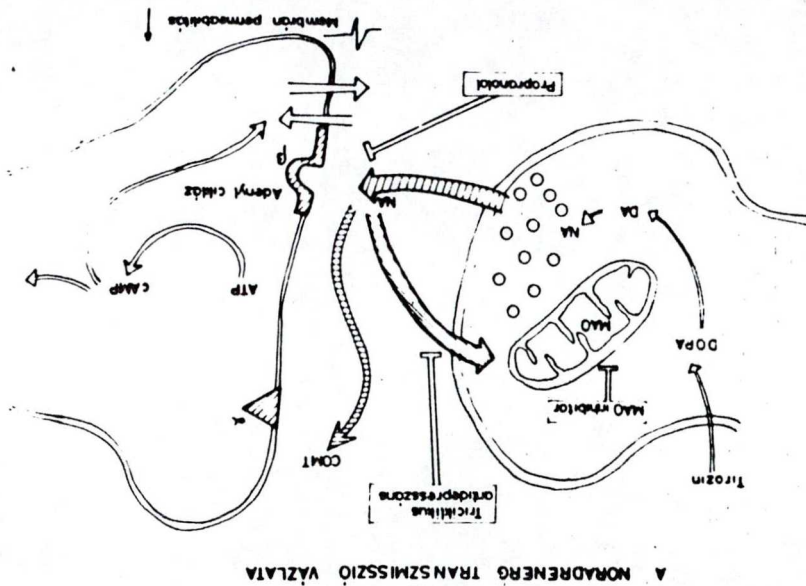
Sok hormon és neurohormon, beleértve a KA-at, a membránon levő specifikus recepttorral lép kölcsönhatásba. Ez a lépés hozza létre az események egész sorát, amely a target sejten észlelt hatáshoz vezet.

A noradrenalin hatása a posztszinaptikus receptorokon sokféle típusú válaszban jut kifejezésre. A receptoroknak azonban két fő típusa van: az  $\alpha$  és  $\beta$ , amelyek a következményeket döntően meghatározzák. Jelzett ligandokkal, melyek nagy affinitással kötődnek ezekhez a receptorokhoz, lehet identifikálni, lokalizálni, és mérni az alfa- és béta-típusú adrenerg-receptorokat a különböző szöveteken, beleértve az agyat is.

A béta-receptor és az Adenil-cikláz E. aktivációja közti viszony, valamint az ezt követő biokémiai válaszok, melyek a NA hatásaihoz vezetnek, eléggé tisztázottak. (Pl. a mellékvese indol anyagcseréje gyors változások alatt áll, amelyeket az N-Acetiltranszferáz E. szimpatikus neuronális kontrollja mediál  $\beta$ -receptor aktiváláson keresztül). Ezen rendszer érzékenységében bekövetkező változások denervációval, vagy drog adminisztrációval értékes modellt szolgáltatnak a  $\beta$ -receptorok kontrolljának vizsgálatára.

Dibutiril-cAMP-ra is van érzékenység változás úgy, hogy az intracelluláris mechanizmusok változásai részben felelősek csak a béta-agonistákkal szembeni érzékenység változására. Így a célszövet válaszadó képességét a célsejt membránján lévő receptor helyek - melyek képesek az agonistával reagálni - számának megváltozása és a receptorok aktiválása által kiváltott posztreceptor mechanizmusokban történő változások kontrollálhatják.

Az antidepresszív hatású pszihofarmakonok (timoleptikumok) hatásmechanizmusát egészen a 70-es évek közepéig preszinaptikus támadásponttal magyarázták, miután egyértelműen igazolható volt, hogy az Imipramin - hazai gyári nevén Melipramin - gátolja a szinaptikus résben felszabaduló ingeranyag molekulák "visszavételét" a preszinaptikus membránon keresztül (6. ábra).



6. ábra

Ez a hatás azonban egyrészt a preszinaptikus sejt ingeranyag szegénységét eredményezi, másrészt pedig a szinaptikus rés nagyon gazdag lesz transzmitter molekulákban, ami megakadályozza, hogy a transzmissziós folyamat során elfoglalt, a poszt-szinaptikus membránon elhelyezkedő receptorok szabaddá váljanak.

Ez a kép azonban nem felel meg annak a klinikai tapasztalatnak, hogy az antidepresszív hatás a gyógyszer adagolása után 2-3 hét múlva következik be. Az ingeranyag-visszavételi mechanizmus gátlása csak az egyszeri gyógyszeradag hatását magyarázza meg, ami az antidepresszív kezelés elején humán anyagon is megfigyelhető (álmosság, feltűnő nyugalom, rossz közérzet, szájszárazság, pupillatágulat), azaz egy centrális depresszív hatású jelleg és mellékhatásként megjelenő kellemetlen, paraszimpatolitikus tünetcsoport jelentkezik.

A klinikailag is nyilvánvalóvá váló antidepresszív hatás a folyamatos terápia második, harmadik hetében mutatkozik, amikor a hangulati élet emelkedése észlelhető: a készletelés, érdeklődés, és tettekkészség fokozódik, azaz a depressziós tünetcsoport oldódik. Ez a hatás farmakológiailag a gyógyyszertűrés (tolerancia) fogalmával értelmezhető és biokémiai szinten receptor-érzékenység megváltozására utal.

### A litium ( $\text{Li}^+$ ) transzport

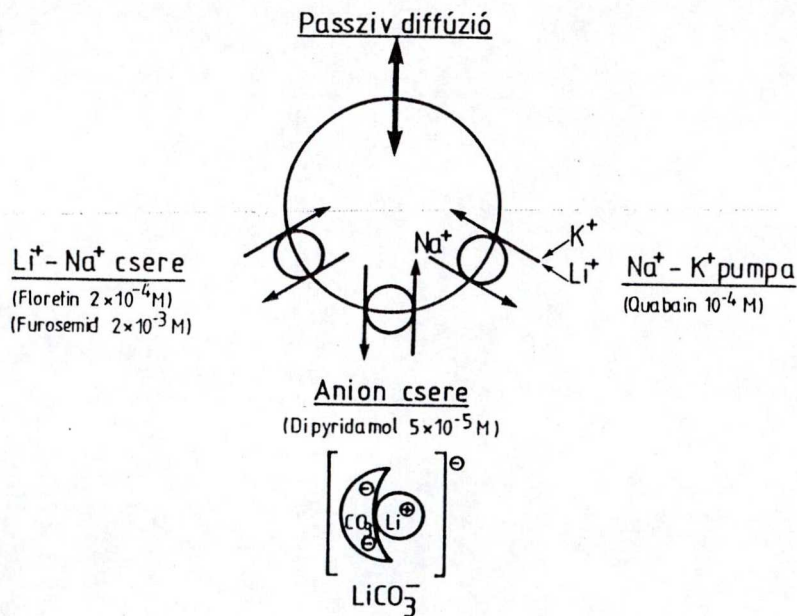
A pszichiátriában nemcsak a fent említett pszichofarmakonoknak van jelentősége a neurokémiai transzmisszióban, hanem a lítiumsóknak is fontos szerep jut az elektrolit háztartás befolyásolásával. A lítiumsókat a pszichiátriában a hangulati élet zavarainak (depresszió különféle formái) kezelésében alkalmazzák sikerrel. Terápiás hatásuk felismerése véletlennek

köszönhető: sómentes diétára szoruló betegeknel a NaCl-ot LiCl-dal pótolták, és ekkor észlelték, hogy a  $\text{Li}^+$ -sók a depresszió kezelésében hasznosítható terápiás hatást fejtenek ki a központi idegrendszerre. Ezt követően klinikai vizsgálatok során tisztázták alkalmazhatóságának feltételeit.

Fenntartó  $\text{Li}^+$  kezelés során egyensúly alakul ki a beteg vörösvértestjeinek és vérplazmájának  $\text{Li}^+$  koncentrációja között (a plazma  $\text{Li}^+$ -koncentrációja magasabb).

A Li-ionok transzportjának vizsgálatát Mendels és Frazer megfigyelése indította el: a  $\text{Li}^+$  terápiás hatékonysága előre jelezhető, ha meghatározzuk a sejt  $\text{Li}^+$  akkumuláló képességét, azaz a plazma/vvt  $\text{Li}^+$  koncentráció hányadost. Amennyiben ez az arány magas, várható, hogy a beteg kedvezően reagál a  $\text{Li}^+$  kezelésre - a beteg Li-responder -. Megindult a terápiásan hatékony  $\text{Li}^+$  koncentrációért felelős transzport rendszerek vizsgálata, és a 70-es évek során tisztázódtak azok a celluláris mechanizmusok, melyek felelősek a  $\text{Li}^+$  megoszlás kialakulásáért. Ezeket a transzmembrán utakat vázolja a 7. ábra.





7. ábra:  $\text{Li}^+$ -transzport utak vörösvérsejtben

#### Li-transzport utak

Mindenek előtt hangsúlyozni kell, hogy a  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATPáz által meghatározott  $\text{Na}^+$ - $\text{K}^+$ -pumpa fiziológias körülmények között nem vesz részt a  $\text{Li}^+$  szállításában. A pumpa kationos kötőhelyei ugyanis a  $\text{Na}^+$ , illetve a  $\text{K}^+$  iránt sokkal nagyobb affinitást mutatnak, mint a  $\text{Li}^+$  iránt, ezért fiziológias körülmények között, amikor mind a sejt környezetében, mind a citoplazmában a  $\text{K}^+$  és a  $\text{Na}^+$  jelen van, a  $\text{Li}^+$  nem képes kötődni a pumpa kation kötőhelyeihez.

(Azok az irodalmi adatok, amelyek a  $\text{Na}^+$ - $\text{K}^+$ -pumpa szerepéről számoltak be a  $\text{Li}^+$  transzportjában, olyan mesterséges körülmények között végzett kísérleteken

alapultak, amikor a médiumban a  $K^+$  és  $Na^+$  koncentrációja extrém módon alacsony volt.)

Fiziológiás körülmények között mind a  $Li^+$  felvétele a sejtbe (influx), mind leadása (efflux) a sejtől olyan mechanizmusokkal történik, amelyek függetlenek az aktív kation transzporttól. A  $Li^+$  felvételnek két komponense tisztázódott; mindkettő downhill, tehát koncentrációgradiens irányába megy végbe. Az egyik anioncsere úton  $CO_3^{2-}$  anionnal komplexet képezve, egy Li-bikarbonát anion formájában (dipiridamollal gátolható), míg a felvétel másik mechanizmusa a "Leak"-transzport (passzív diffúzió). Mindkettőre jellemző, hogy koncentrációgradiens irányába játszódik le.

A  $Li^+$  leadása történhet természetesen a fenti mechanizmusokkal is, azonban fiziológiás viszonyok között a  $Li^+$  kiáramlása a sejtől egy érdekes, ún. counter transzport mechanizmussal megy végbe. Ez egy carrier-mediált, floretin szenzitív  $Li^+-Na^+$  kicserélődést jelent. Azon alapszik, hogy a  $Li^+$  affinitása igen nagy azokhoz a membrán belső oldalán elhelyezkedő  $Na^+$  kötőhelyekhez, amelyek  $Na^+-Na^+$  cserét hoznak létre. Ezekhez a speciális kötőhelyekhez a  $Li^+$  affinitása 18-szor nagyobb, mint a  $Na^+$  affinitása, ezért a  $Li^+$  leszorítja a  $Na^+$ -ot a kötőhelyről.

Így jön létre ez a  $Li^+-Na^+$  csere, amely a membrán-potenciál értékekkel együtt meghatározza a  $Li^+$  megoszlását a sejt és a környezete között. Alacsony membránpotenciállal rendelkező vörösvértestekben ezért a  $Li^+$  koncentráció alacsonyabb, mint a médiumban. Ez az

arány a  $\text{Li}^+$ - $\text{Na}^+$  csere intenzitása egyéenként érdekes, a vizsgálatok szerint genetikusan meghatározott jellegzetességet mutat. Így a  $\text{Li}^+$  terápiára nem reagáló u.n. nonresponder pszichózis mániáka-depresszívákban szenvedő betegeknél alacsony intracelluláris  $\text{Li}^+$  szintet eredményez.

#### Magvas vörösvérsejtek, mint modellrendszerek.

Mint arról már a bevezetőben említés történt, a magvas madár vörösvérsejt eukariota sejt. Tulajdonságainak egy része lehetőséget nyújt arra, hogy bizonyos transzport-problémák vizsgálatánál hasznos modellként szolgáljanak. Ilyen probléma a már említett glükóz transzport és a sejt energia felhasználásának tanulmányozása.

Ezen kívül mivel a madár vörösvérsejtek membránjukon  $\beta$ -adrenerg katekolaminok által aktiválható Adenil-cikláz Enzimet hordoznak (Suherland és mtsai 1962), alkalmasak a  $\beta$ -receptorokhoz kapcsolt membrán folyamatok intakt sejteken történő tanulmányozására. A  $\beta$ -adrenerg katekolaminok hatása a szövet elektrolit összetételének, kation transzportjának változásaira egyszerűen vizsgálható. Ilyen jellegű vizsgálatokban a madár vörösvérsejt hasznos eszköz, ugyanis a sejtek könnyen, gyorsan nyerhetők más sejttípusoktól mentesen, így nem merülnek fel azok a nehézségek, mellyel általában a tanulmányozott szövetek funkcionális komplexitása miatt szembe kell néznünk.

A madár vörösvérsejtek kation permeabilitása és térfogatszabályozása (Kregenow, 1977) hormonális irányítás alatt áll.

Korábban Orskov közölte (Orskov, 1956), hogy a noradrenalin  $K^+$  felvétel növekedést eredményez galamb vörösvérsejtekben. Riddick mutatta ki in vitro kísérletekben (Riddick és mtsai 1971), hogy kacsavörösvérsejtekben a noradrenalin csökkenti a  $K^+$ ,  $Na^+$  és a vízvesztés sebességét. A katekolaminok és a kationtranszport kapcsolatát Gardner és mtsai vizsgálták részleteiben (Gardner és mtsai 1973., 1974.). Közölték, hogy  $\beta$ -adrenerg katekolaminok a  $Na^+$  transzport és intracelluláris-cAMP tartalom nagymértékű megnövekedését eredményezték pulyka vörösvérsejtekben. Katekolamin analógok is létrehozták ezt a hatást olyan mértékben, amilyen mértékben az adenil cikláz enzimet aktiválni képesek. Ezen észlelés alapján bizonyítottnak tekinthető (Gardner 1974), hogy a katekolaminok a pulyka vörösvérsejt kation permeabilitást befolyásoló hatása, a katekolaminok és a sejtek membrán kölcsönhatásának eredménye, amely az adenil-cikláz enzim aktiválását és intracelluláris cAMP képződését jelenti.

(Friss pulyka vörösvérsejteknek nincs kimutatható cAMP tartalma, katekolamin aktiváló hatásra a cAMP szint jelentős mértékben megemelkedik. 160-300 pmol/ml quabain önmagában nem gátolta sem a katekolamin aktivált  $Na^+$  transzport növekedését, sem a katekolamin

indukált cAMP felszaporodást (Gardner 1974), jelezve, hogy a mechanizmus a  $\text{Na}^+$ - $\text{K}^+$ -pumpától független.

A patológiai kutatás általános problémája, hogy jellegzetesen humán megbetegedések esetén, mint amilyen a pszichiátriai betegségek többsége, nincs megfelelő állatkísérletes modell. Ismertek ugyan olyan anyagok, melyek alkalmazásával állatokon kísérletes pszichozist hozhatunk létre, ezek azonban annak ellenére, hogy tünettanuk részben szimulálja a humán megbetegedést, a patogenetikai tényezőket tekintve, azoktól merőben eltérőek. Részben ez az oka annak, hogy neuropszichiátriai körképekben a celluláris membránfunkciók, transzport- és anyagcsere folyamatok vizsgálatában egyszerű felépítésű és anyagcseréjű intakt sejtek alkalmasak arra, hogy a szervezet egyéb sejtjeiben lejátszódó anyagcsere és iontranszport folyamatokra vonjunk le következtetéseket.

Ismeretes, hogy a vörösvérsejt membrántranszport funkciói, a membrán ATPáz rendszer sajátosságai a kvalitatív viszonyokat tekintve jelentős egyezést mutatnak az idegsejtek megfelelő membrán funkcióival (Hodgkin és Keynes, 1954; Gárdos 1954).

Számos adat igazolja azt is, hogy a szervezet membrán funkcióit érintő hatások a vörösvérttesteket éppúgy érintik, mint az egyéb szöveteket (Wiley és Cooper 1974). Bizonyos membrán támadáspontú farmakonok (pl. trankvillánsok) ugyanolyan változásokat okoznak vörösvérsejteken, mint idegsejteken (Bernstein és Israel 1970).

Ugyanakkor a legkülönbözőbb patológiás állapotokban végzett vizsgálatok a vörösvérsejt iontranszport változásaival kapcsolatosan hozzájárultak a betegség patomechanizmusának megközelítéséhez (Funder és Wieth 1974; Bolis és mtsai 1976).

A fent vázolt kísérleti adatok és elvi megfontolások vezettek a választáshoz, hogy pszichotrop szerek  $\beta$ -adrenerg membránfunkciókra és a kationok transzportjára gyakorolt hatásának tanulmányozása céljából vizsgálatainkban pulyka vörösvérsejteket alkalmazzunk, mint modellt.

### Célkitűzés

A klinikai gyakorlatokban kiterjedten alkalmazzák a triciklikus antidepresszánsokat, valamint a lítiumsókat, és ezek kombinációját. Mivel ezen pszichotrop szerek a neurotranszmitterek szintjét erősen befolyásolják, és a neurotranszmitterek fontos membránfunkciókat kontrollálnak (a posztszinaptikus membrán külső felületén levő receptorok működését, és a transzmembrán kation transzportját), célul tűztük ki, hogy megvizsgáljuk a neuro- és timoleptikumok, valamint a  $\text{Li}^+$ -sók hatását intakt sejtek kation transzportjára, valamint intracelluláris cAMP szintek tartalmára.

A korábban vázoltak értelmében ezek az anyagok a neuronális adrenerg receptorokra hatást fejtenek ki, módosítják a sejtek katekolamin szintjét és ezen keresztül a membrán ionpermeabilitását, valamint az intracelluláris cAMP koncentrációját.

Vizsgáltuk tehát intakt sejtek  $\text{K}^+$  transzportjának és intracelluláris cAMP tartalmának változásait neuroleptikumok (Hp, Hib.), timoleptikumok (Teperin Imipramin), és  $\text{Li}^+$ -sók jelenlétében, valamint ezek kombinációjának együttes hatását a fent vázolt folyamatokra. Ezen kérdéscsoport tanulmányozása volt értekezésem célkitűzése. Hangsúlyozni szeretném, hogy a probléma jelenlegi vizsgálatakor alkalmazott intakt pulyka vörösvérsejt, mint modell (membrán tulajdonságai alapján) volt szükséges a célkitűzés megvalósításához. Kísérleteink során nem a magvas vörösvérsejt fiziológiája, vagy biokémiája volt érdeklődésünk

tárgya, hanem a magvas vörösvérsejtet modellként tekintettük a fenn vázolt transzport szabályozási folyamatok vizsgálatához.



## Módszerek

### A vörösvérsejtek izolálása

A pulyka (*Meleagris gallopavo*) mellső végtagján a vena claviculából serum 1-es tűvel vérmintát vettünk. A heparinnal alvadásgátolt vérből 5 perces 3000 ford/perc centrifugálással távolítottuk el a vérplazmát, majd a vörösvérsejteket háromszor mostuk fiziológiás sóoldattal (5 perc, 3000 ford/perc centrifugálás, 0.9 % NaCl). A mosott sejteket az alábbi összetételű Ringer oldatban szuszpendáltuk:

137-157 mM NaCl

3 nM MgCl<sub>2</sub>

2,5 mM KCl

10 mM TRiHCl (pH=7,4)

0,2 % glukóz

Az így módon készített vörösvérsejt szuszpenziót használtuk kísérleteink során a K<sup>+</sup> transzport és a cAMP-tartalom változásainak vizsgálatára pszichotrop szerek, valamint Li<sup>+</sup> jelenlétében, melyeket a fenti összetételű mediumhoz adva alkalmaztunk.

### A K<sup>+</sup>-ion transzportjának vizsgálata

A K<sup>+</sup>-ion transzport vizsgálatát a fent ismertetett összetételű Ringer oldatban szuszpendált vörösvérsejteken végeztük, 20%-os hematokrit tartalom mellett. A szuszpenzióhoz quabaint adva 10<sup>-4</sup> M

végkoncentrációban, a  $K^+$ -ionok radiokémiai nyomjelzőjének  $^{86}\text{Rb}$  izotóp alkalmazásával.

A  $^{86}\text{Rb}$  inkorporációjának meghatározása céljából a megfelelő összetételű szuszpenziókat  $38^\circ\text{C}$ -on rázatva vízfürdőben inkubáltuk, és az inkubációs idő különböző pontjaiban mintákat vettünk. A mintákat háromszor mostuk  $0^\circ\text{C}$ -on fiziológiás sóoldattal (centrifugálás 5 perc, 3000 ford/perc), a felesleges  $^{86}\text{Rb}$  eltávolítása céljából, majd a vörösvérsejteket 0,1 %-os vizes szaponin oldattal hemolizáltuk. A hemolizátumok egy részletéből 20%-os triklórecetsavval eltávolítottuk a fehérjéket (0,5 ml 20%-os TCA + 1,0 ml hemolizátum), majd centrifugálás után a felülúszó radioaktivitását Cserenkov effektus alapján mértük. A hemolizátumok másik részéből hemoglobint határoztunk meg.

Kísérleteink során az izolált pulyka vörösvérsejtek noradrenalin rezisztens és noradrenalin érzékeny  $K^+$  ionfelvételét  $\text{Li}^+$  jelenlétében, valamint antipszichotikus és antidepresszív gyógyszerek jelenlétében vizsgáltuk. A gyógyszereket valamennyi kísérletben  $5 \times 10^{-5}$  M-os koncentrációban használtuk, a noradrenalin koncentrációja  $10^{-6}$  M volt. A  $\text{Li}^+$  ionokat a  $\text{Na}^+$  ionkoncentráció rovására vittük be a vizsgálati médiumba és ezek  $\text{Li}^+$ -ionkoncentrációját a kísérletek során rendszeresen ellenőriztük.

A felvett  $^{86}\text{Rb}$  mennyiséget dpm/ml vvs/30 perces értékben adtuk meg. A minták cAMP tartalmának meghatározása párhuzamos kísérletekben történt. Az itt vizsgált minták izotópot nem tartalmaztak. Az

inkubációs idő megfelelő pontjaiban vett mintákat azonnal 100 °C-os vízfürdőbe helyeztük 3 percre, majd a cAMP méréséig -20°C-on tarottuk.

A cAMP meghatározásakor a mintákat 0°C-ra melegítettük, a denaturálódott fehérje-elemeket centrifugálással eltávolítottuk (1 perces 3000 ford/perc), és a felülúszó részletét használtuk cAMP meghatározásához.

#### A cAMP koncentrációjának meghatározására kompetitív-binding módszerrel

A cAMP kompetitív binding módszer (Brown, 1971) azon alapszik, hogy egy előzőleg  $^3\text{H}$ -cAMP-al inkubált kötőfehérje specifikus kötőhelyéről leszorítjuk a radioaktív szubsztrátot, a meghatározandó inaktív cAMP-al. A radioaktív cAMP-nak és az inaktív cAMP-nak a kötőfehérjén történő megoszlása után, a szabad cAMP-ot aktív-szén adszorbenssel elkülönítjük, és a fehérjéhez kötött radioaktivitást meghatározzuk.

#### A meghatározáshoz szükséges anyagok

- |                         |   |
|-------------------------|---|
| a./ Puffer:             | 50 mM TRIS-HCl                                    |
|                         | 4 mM EDTA (pH=7,5)                                |
| b./ Kötőfehérje         | preparálásának leírása a következő fejezetben     |
| c./ $^3\text{H}$ -cAMP: | 70-100 kBq= 100 pmol/10 ml<br>TRIS/EDTA pufferben |

d./ cAMP-standard: 1600 pmol/5 ml TRIS/EDTA  
pufferben

e./ Aktív-szén adszorbens: NORIT GSX 1 g,  
szérum albumin  
2% 20 ml TRIS/EDTA  
pufferben

f./ Scintillator: 10 g POPOP, 0,2 g PPO  
1 liter toluolban

#### Számítások elve

$C_0$  = cAMP távollétében mért c.p.m.

$C_x$  = ismert (1-16 pmol) vagy ismeretlen mennyiségű cAMP jelenlétében mért c.p.m.

a  $C_0/C_x$ -et minden egyes standardra és ismeretlenre kiszámítjuk.

Felrajzoljuk a  $C_0/C_x$  egyenesét a pmol cAMP standarddal szemben. Ez 1-nél metszi az ordinátát. Megadjuk az egyenes meredekségét, ez = S.

Ha  $P=0$ , akkor a  $C_0/C_x = P \times S=1$ ,

ezekből ki tudjuk számítani a minták cAMP tartalmát:

ahol

a P = pmol cAMP

$$P = \frac{C_0}{C_x} - 1 \times \frac{1}{S}$$

A minták hemoglobin tartalmának meghatározása után eredményeinket nmol cAMP/ml vvs. értékben fejeztük ki.

#### Kötőfehérje preparálása cAMP meghatározásához

A cAMP meghatározásánál alkalmazott kötőfehérjét Brown és mtsai (1971) módszere szerint marha mellékveséből preparáltunk. A mellékvese cortexét szeparáltuk, majd daraboltuk. Ezután 1,5-szeres térfogatú 0-1 °C-os hőmérsékletű médiumban homogenizáltuk.

Médium: 0,25 M szaharóz  
50,0 mM TRIS-HCL (pH=7,4)  
25,0 mM KCl  
5,0 mM MgCl<sub>2</sub>

A homogenátot centrifugáltuk 2000 g-n 5 percig 4°C-on. A szupernatánst ismét centrifugáltuk 15 percig 5000 g-n. A kapott felülúszó tartalmazta a kötőfehérjét, melynek kis részletét kötő-kapacitásának különböző hígítások melletti meghatározására használtuk, és a legmegfelelőbb hígítási arány szerint a nyert összes kötőfehérjét az alábbi pufferrel hígítottuk, majd a felhasználásig 0,5 ml-es adagokban -20°C-on tároltuk.

A kötőfehérje hígításához használt pufferoldat összetétele:

- 50 mM TRIS (pH=7,4)
- 8 nM teofillin
- 6 nM 2-merkaptoetanol

#### A hemoglobin tartalom meghatározása

A vörösvérsejtek hemoglobin tartalmának meghatározásához a hemoglobint átalakítjuk  $K_3/Fe/CN/6/-$ dal. A CN-ionok hatására a cian-hemoglobinná alakult a hem. és így a ciánhemoglobinra jellemző abszorpciós görbét  $\lambda = 720$  nm hullámhosszon, spektrofotometriásan mérjük.

#### Reagens összetétele:

- 0,75 g  $KHCO_3$
- 0,2 g  $K_3/Fe/CN/6/$
- 0,05 g KCN

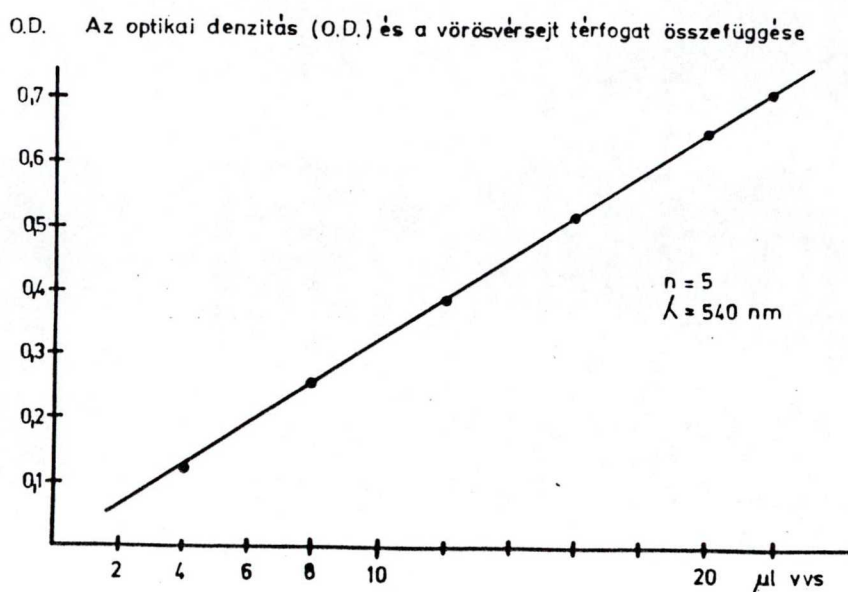
1000 ml oldattérfogatra számítva

A reagens 5 ml-éhez a vizsgált hemolizátumból 50  $\mu$ l-t adtunk, majd jól összezártuk, és 20 perc elteltével = 540 nm-nél határoztuk meg a minták optikai denzitását (O.D.) SPEKTROMOM 195 fotométeren.

Mivel eredményeinket ml vvs-re vonatkoztatva akartuk megadni, ezért meghatároztuk normál pulykavér hematokrit értékét, valamint megmértük ugyanezen

vérminták hemoglobin tartalmát. Azt találtuk, hogy azonos hematokrit értékek esetén az optikai denzitás lineárisan változott a bemért hemolizátumok mennyiségével.

/8. ábra/



8. ábra: Összefüggés a hemoglobin spektrofotometriás meghatározásakor mért optikai denzitás és a vörösvérsejt tartalom között pulyka vörösvérsejtek esetén.

Ezen összefüggés felhasználásával olyan szorzófaktort számítottunk, amelynek alkalmazásával optikai denzitás mérésével a minták vvs-tartalmát ml-ben adhattuk meg.

#### Li<sup>+</sup> koncentráció meghatározása

A kísérletek során alkalmazott különböző Li<sup>+</sup> tartalmú oldatok koncentrációjának ellenőrzését Perkin

Elmer 306 atomabszorpciós spektrométeren végeztük. A készülék kalibrálása a gyártó cég által szállított  $\text{Li}^+$  standarddal történt.

Ezúton köszönetet mondok a SZOTE Központi Kutató Laboratórium munkatársainak a mérési lehetőségekért.



Anyagok, eszközök

A vizsgálatok során felhasznált izotópokat a MTA Izotóp Intézete szállította.

A készítmények jellemzői:

$^{86}\text{Rb}$ , hazai gyártmányú,

fajlagos aktivitása: 6,152 GBq/g Rb

$^3\text{H}$ -cAMP, Amersham készítmény,

fajlagos aktivitása: 5,8 TBq/g cAMP

Vizsgálatainkban alkalmazott neuro- és timoleptikumokat az EGYT Gyógyszervegyészeti Gyár (Budapest) állította elő. Ezen pszichofarmakonokat (Haliperidol, Hibenal, Melipramin, Teperin injekció hígításával)  $5 \times 10^{-5}$  M-os koncentrációban használtuk fel.

A quabain (g-Strofantin) és noradrenalin (Noradrenalin-tartarát) MERCK, a Norti GSX (Charcoal, activated) és a teofillin (Teofillin)<sub>2</sub>-etiléndiamin SIGMA, a 2-merkaptoetanol LOBA CHEMIE, WIEN, a cAMP (3:5'-adenozin-ciklofoszfát) FLUKA készítmény volt. Valamennyi egyéb felhasznált vegyszer a Reanal Finomvegyészergyár készítménye és "analitikailag tiszta" minőségű volt.

Eszközök:

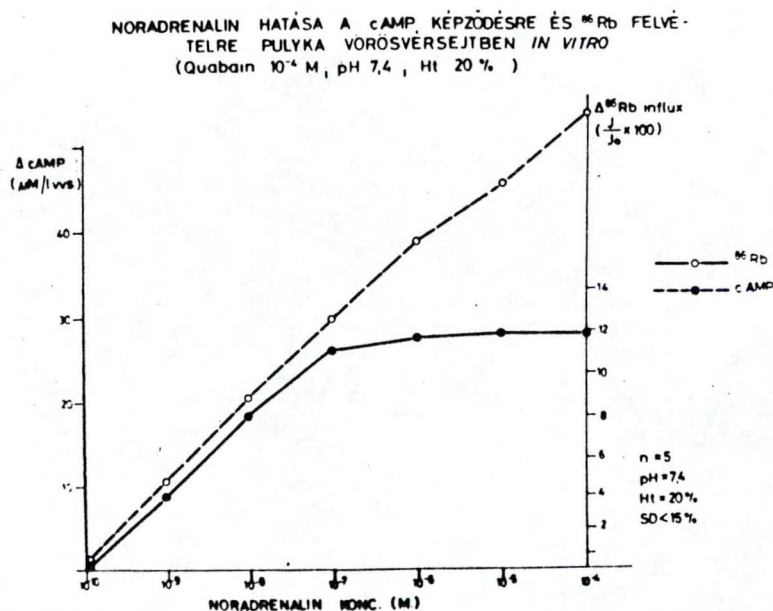
Mintáink radioaktivitását a Cserenkov-effektus alapján Nuclear Chicago folyadékszcintillációs spektrométer alkalmazásával határoztuk meg. A hemoglobin meghatározás során SPEKTRONOM 195 fotométert használtunk.

A  $\text{Li}^+$  ionok meghatározása Perkin-Elmer 306 atomabszorpciós spektrométeren történt.

### Eredmények

A litium ionok hatása a noradrenalin aktivált cAMP szintek és noradrenalin stimuláló  $\text{K}^+$ -iontranszport változásaira

A noradrenalin koncentráció változásának hatását vizsgálva pulyka vörösvérsejtek cAMP szintjére valamint a  $^{86}\text{Rb}$  felvételére; a két változás között párhuzamosságot tapasztaltunk. A különböző noradrenalin koncentrációnál észlelt változásokat a 9. ábrán tüntettük fel.

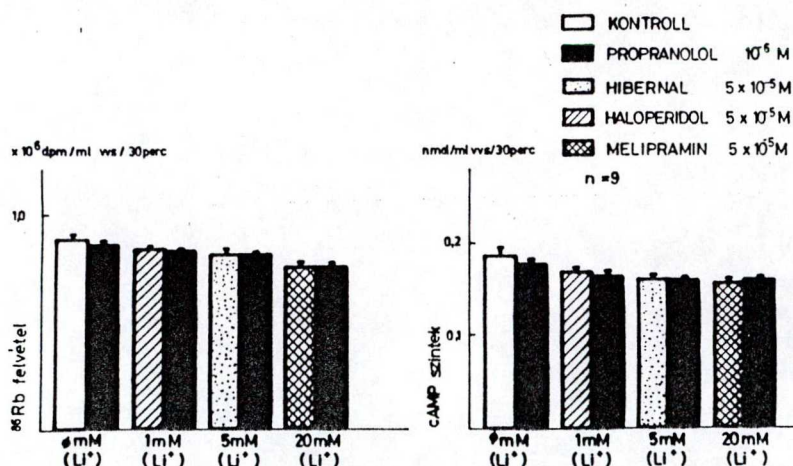


9. ábra: Noradrenalin hatása a cAMP képződésre és a  $^{86}\text{Rb}$  felvételre pulyka vörösvérsejtekben *in vitro*.

A bal oldali ordináta a noradrenalin-érzékeny cAMP tartalom növekedést (nM-cAMP/1 vvs értékben kifejezve), a jobb oldali ordináta a sejtek által felvett  $^{86}\text{Rb}$  mennyiségét mutatja a médium radioaktivitásának százalékában. ( $I = \text{dpm/ml vvs}$ ;  $I_0 = \text{dpm/ml medium}$ ). Látható, hogy a  $10^{-7}$  M noradrenalin koncentráció értékig az influx ( $^{86}\text{Rb}$ ) és a cAMP szint párhuzamos emelkedést mutat. E feletti noradrenalin koncentráció értéknél a  $\text{K}^+$  transzportja telítődik, míg a cAMP szint tovább emelkedik. Ezen eredményeink egyezést mutatnak a Riddick (1971) és Gardner (1974) által közölt adatokkal; akik megállapították, hogy alacsony noradrenalin koncentrációk alkalmazásával a  $\text{K}^+$ -transzport fokozódik és ehhez, a cAMP tartalom emelkedése szükséges feltétel. Valamint, hogy a propranolol /általában ismert  $\beta$ -adrenerg receptor blokkoló szer/, meggátolja mind a noradrenalin-szenzitív  $\text{K}^+$  transzport, mind a cAMP tartalom növekedését. Mindezek alapján vizsgálataink során a pulyka vörösvérsejt  $\beta$ -adrenerg receptorok aktiválására  $10^{-6}$  M noradrenalin (NA) koncentrációt használtunk. A  $\text{Li}^+$ , neuro-, és timoleptikumok hatását ezen hormonszint mellett vizsgáltuk.

A növekvő lítium ionkoncentráció hatására bekövetkező változásokat a  $\text{K}^+$ -transzportban, valamint a cAMP intracelluláris szintjeinek alakulásában a 10. ábra szemlélteti.

NÖVEKVŐ ( $\text{Li}^+$ ) HATÁSA A  $^{86}\text{Rb}$  FELVÉTELRE ÉS A cAMP SZINTEK VÁLTOZÁSAIRA  
 IN VITRO MAGVAS VÖRÖSVERSEJTEKEN / pH=7,4 ; Quabain= $10^{-4}\text{M}$ ; Ht = 20% /



10. ábra

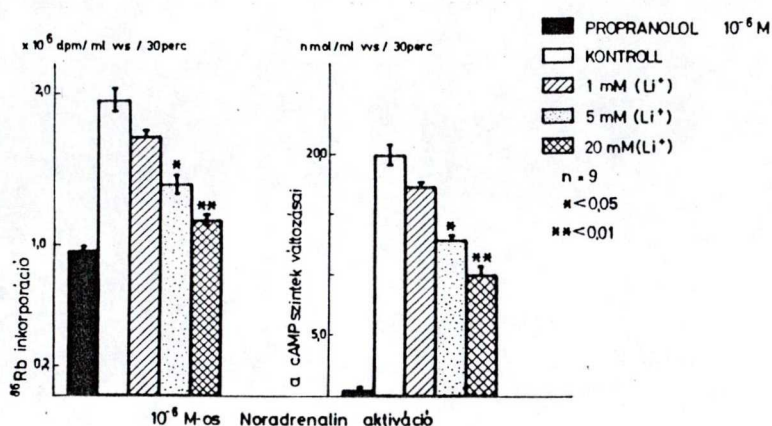
Látható, hogy sem a  $^{86}\text{Rb}$  felvételét, sem pedig az intracelluláris cAMP szintek értékeit nem befolyásolja lényegesen egyik  $\text{Li}^+$  koncentráció sem. Még a fiziológiás  $\text{Li}^+$  koncentrációtól oly távoleső 20 mM [ $\text{Li}^+$ ] sem változtatja meg értékelhetően a  $^{86}\text{Rb}$  felvételét, valamint cAMP szinteket a kontrollhoz képest.

A  $\beta$ -adrenerg receptor blokkoló propranolol jelenlétében mért  $^{86}\text{Rb}$  inkorporáció és a cAMP értékek nem különböznek a kontroll értékektől. Ezért a későbbiek során a propranolol mintákat - egyezvén a kontrollal - mint viszonyítási alapokat tüntetjük fel az ábrákon.

A  $10^{-6}$  M noradrenalin aktiváció hatására fokozódik a  $^{86}\text{Rb}$  felvétel és az intracelluláris cAMP szintézis mértéke, mindhárom alkalmazott  $\text{Li}^+$  mellett.

( $\text{Li}^+$ : 1 mM; 5 mM; 20 mM) - /11. ábra/

A NORADRENALIN AKTIVÁCIÓ ÉS NÖVEKVŐ LITHIUM-ION KONCENTRÁCIÓ HATÁSÁRA BEKÖVETKEZŐ VÁLTOZÁSOK A  $^{86}\text{Rb}$  INKORPORÁCIÓBAN A cAMP SZINTEK VÁLTOZÁSÁBAN INTAKT PULKA VÉRŐSVÉRSEJTEKEN (pH=7,4 ; Quabain= $10^{-4}$  M; Ht= 20%.)



11. ábra:

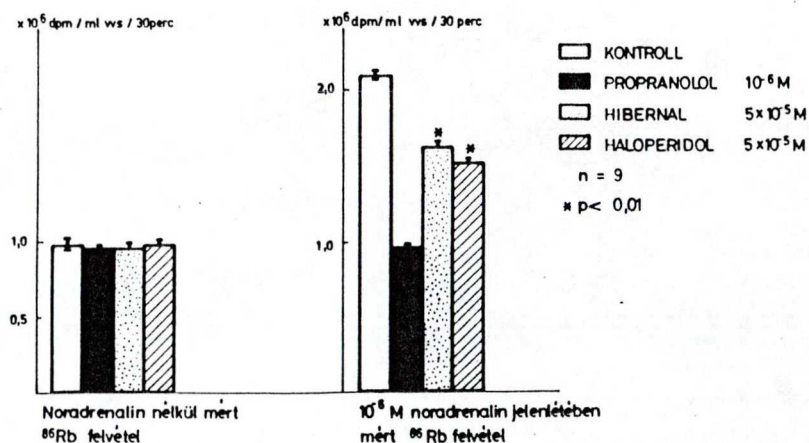
Jól látható, hogy a  $^{86}\text{Rb}$  felvétele a "propranololos kontrollokhoz" képest a noradrenalin stimulációt követően többszörösére emelkedett, s ugyanakkor mintegy százszorosára fokozódott a cAMP szintézis is a katekolamin aktivációra. A lítium-ion nagyobb koncentrációk felé haladva egyre inkább gátolja mind a cAMP szintézist, mind a  $[\text{K}^+]$  transzportot. Látható a 10. és 11. ábrák összevetéséből, hogy a propranolol  $10^{-6}$  M-os koncentrációban kivédi a noradrenalin hatását, tehát valóban alkalmas az alapszint értékek ábrázolására.

A neuro- és timoleptikumok hatása a katekolamin szenzitív  $^{86}\text{Rb}$  felvételre és a cAMP szintekre

A pszichiátriai gyakorlatban a lítium ionok mellett széles körben alkalmazott drogok a neuroleptikus szerek, mint a Haloperidol és Hibernal, valamint a timoleptikus hatású Melipramin és Teperin. Ezen gyógyszerek feltételezett hatásmechanizmusát a 6. ábra szemlélteti.

A neuroleptikus szerek, mint a Haloperidol és Hibernal hatását a noradrenalin szenzitív  $^{86}\text{Rb}$  felvételre a 12. ábrán tüntettük fel.

A NEUROLEPTIKUMOK HATÁSA A NORADRENALIN ÉRZÉKENY  $^{86}\text{Rb}$  INKORPORÁCIÓRA MAGVAS VÉRŐSVÉRSEJTEKEN IN VITRO:  
/ pH: 7,4 ; Quabain= $10^{-4}\text{M}$  ; Ht: 20 % /

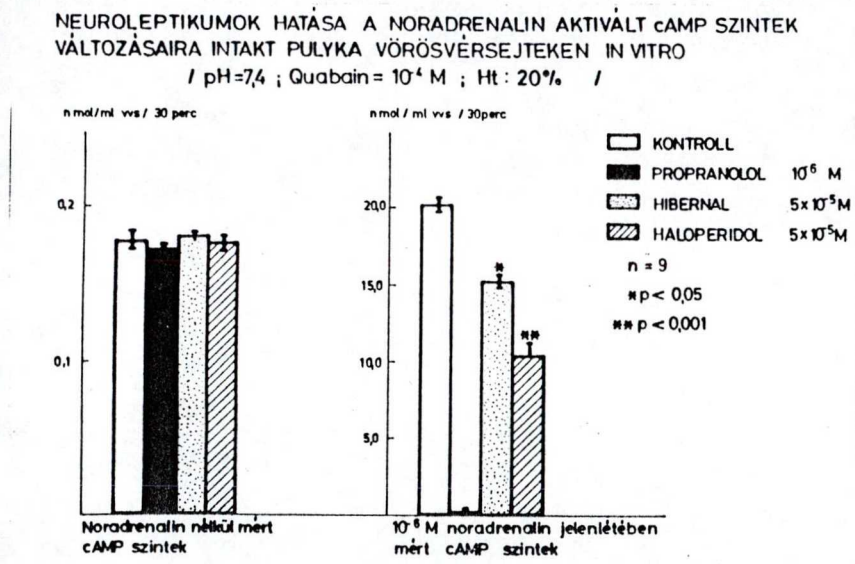


12. ábra:

Az alapszinteket egyik gyógyszer sem képes értékelhetően befolyásolni, azonban a  $10^{-6}\text{M}$ -os

noradrenalin aktiváció hatására többszörösére fokozódó  $^{86}\text{Rb}$  inkorporációját szignifikánsan csökkenti a Haloperidol és a Hibernal  $5 \times 10^{-5}$  M-os koncentrációban.

A neuroleptikumok az intracelluláris cAMP szinteket is csak a noradrenalin stimuláció után képesek gátolni (13. ábra).



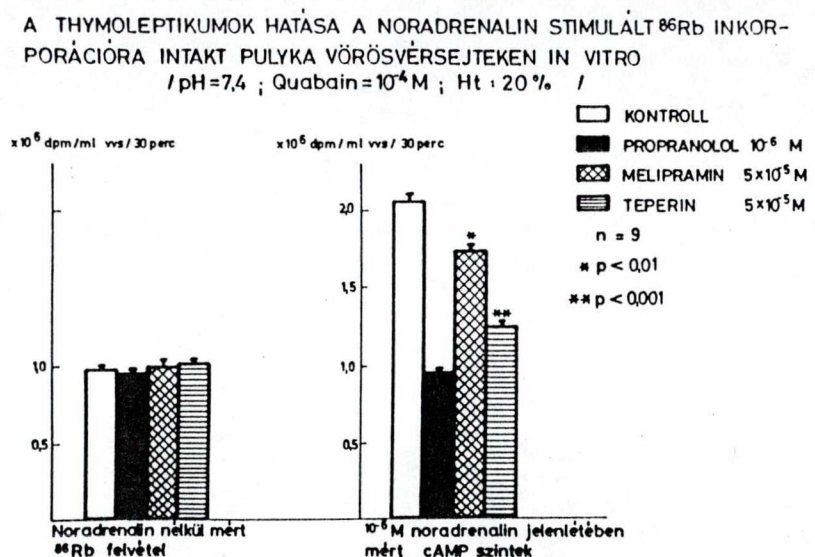
13. ábra:

Az ábrát összevetve a 12. ábrával, azonnal szembetűnik, hogy a ciklikus nukleotida rendszer sokkal érzékenyebben változik a noradrenalin stimuláló hatására - az alapszintek százszorosra fokozódnak.

A propranolol ( $10^{-6}$  M-os koncentrációban) itt is kivédi a noradrenalin receptor aktiváló hatását.

A timoleptikumok  $^{86}\text{Rb}$ -felvételre gyakorolt hatásának vizsgálata során azt tapasztaltuk, hogy az alap kontroll értékeket önmagában sem a Melipramin, sem pedig a Teperin ( $5 \times 10^{-5}$  M-os koncentrációban) nem képes befolyásolni.

A  $10^{-6}$  M-os noradrenalin jelenlétében megnövekedett  $^{86}\text{Rb}$  felvételt azonban erősen gátolják (14. ábra).

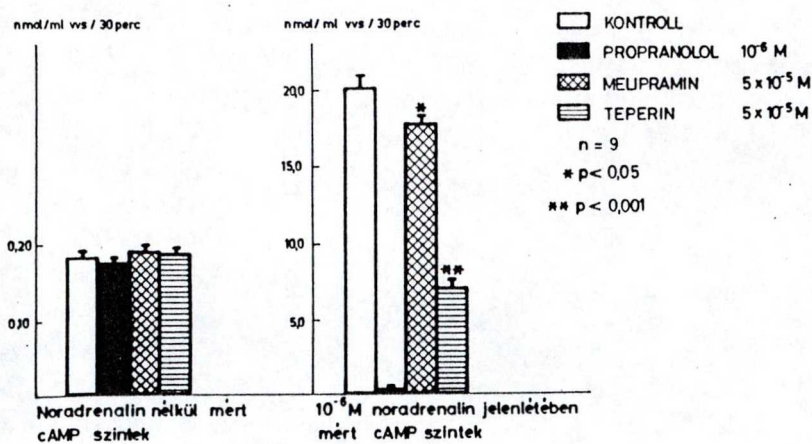


14. ábra:

A következő ábrán (15. ábra) ugyanezen drogok (Melipramin, Teperin) hatását tüntettük fel a noradrenalin szenzitív ciklikus nukleotida rendszer változásaira.



A THYMOLEPTIKUMOK HATÁSA A cAMP SZINTEK VÁLTOZÁSÁRA MAGVAS  
VÖRÖSVÉRSEJTEK BEN IN VITRO / pH=7,4 ; Quabain= $10^{-4}$  M ; Ht: 20% /



15. ábra:

Látható, hogy hasonlóan a 14. ábrán látottakhoz, szignifikáns gátlást itt is csak a noradrenalin aktiváció után észlelhetünk timoleptikumok jelenlétében.

Az I. táblázatban összefoglalva tüntettük fel eredményeinket, ahol értékeink 6-9 kísérlet mérési adatainak átlagát mutatják.

PSZICHOTROP SZEREK HATÁSA A NORADRENALIN AKTIVÁLT  $^{86}\text{Rb}$   
 FELVÉTELRE ÉS cAMP KÉPZŐDÉSRE *IN VITRO*

GYÓGYSZER ( M )	N	$^{86}\text{Rb}$ FELVÉTEL dpm $\times 10^6$ /ml vs/30'	GÁTLÁS %	cAMP KÉPZŐDÉS nmol/ml vs/30'	GÁTLÁS %
Kontroll	9	1,36 $\pm$ 0,24	—	19,84 $\pm$ 3,68	—
Hibernal ( $5 \times 10^{-5}\text{M}$ )	9	0,85 $\pm$ 0,18	37,5	15,72 $\pm$ 2,45	20,8
Haloperidol ( $5 \times 10^{-5}\text{M}$ )	6	0,73 $\pm$ 0,12	66,3	9,67 $\pm$ 1,78	51,2
Melipramin ( $5 \times 10^{-5}\text{M}$ )	6	1,02 $\pm$ 0,14	25,0	16,41 $\pm$ 2,97	17,3
Teperin ( $5 \times 10^{-5}\text{M}$ )	8	0,57 $\pm$ 0,07	58,1	6,65 $\pm$ 1,04	64,4

I. táblázat: Pszichotrop szerek hatása a noradrenalin aktivált  $^{86}\text{Rb}$  felvételre és a cAMP képződésre *in vitro*.

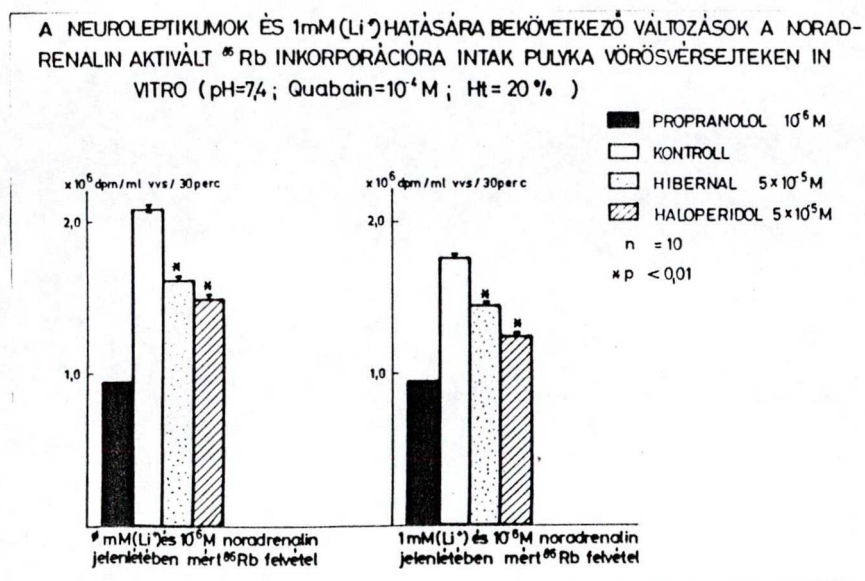
Összefoglalva megállapítható, hogy az általunk, és széles körben alkalmazott közismert neuro- és timoleptikumok kifejezetten gátolják intakt sejteken is mind a katekolamin indukált  $^{86}\text{Rb}$  transzportot, mind pedig a noradrenalin stimulált cAMP szintézist.

Litium-pszichofarmakon interakció vizsgálata a  $\beta$ -adrenerg receptorhoz kapcsolt noradrenalin stimulált  $^{86}\text{Rb}$  felvételre, valamint a cAMP szintek változásaira

Terápiás szempontból is igen fontos a  $\text{Li}^+$ -pszichofarmakon interakció vizsgálata a  $\beta$ -adrenerg receptor vonatkozásában. *In vitro* kísérletekből kiderült, hogy a  $\text{Li}^+$  már 1 mM-os koncentrációban is képes befolyásolni intakt pulyka vörösvérsejtek

noradrenalin-stimulált  $^{86}\text{Rb}$  inkorporációját, valamint a harminc perc alatt képződött cAMP-ot.

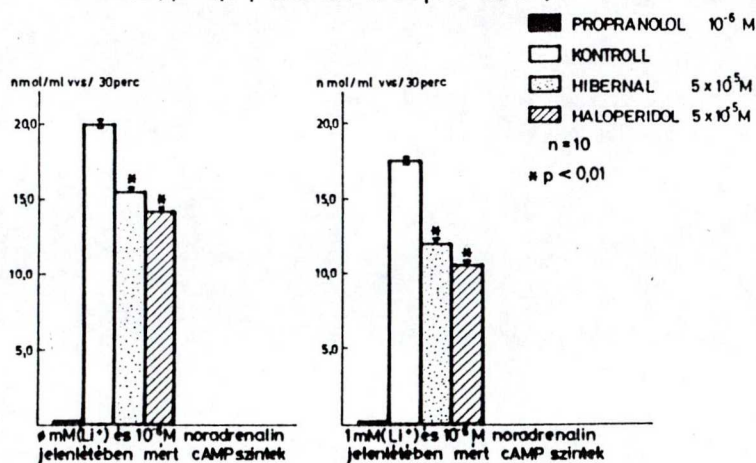
A 16. és 17. ábrákon a neuroleptikumok és 1 mM ( $\text{Li}^+$ ) kombináció hatására bekövetkező változásokat tüntettük fel a  $^{86}\text{Rb}$  felvételre és a cAMP szintek változásaira.



16. ábra:

Látható, hogy a  $10^{-6}\text{M}$  noradrenalin hatására megnövekedett  $^{86}\text{Rb}$  felvételét  $\text{Li}^+$  mentes közegben mind a Haloperidol, mind a Hibernal gátolja. Az 1 mM  $\text{Li}^+$ -t tartalmazó inkubáló oldatban kismértékben tovább csökken a  $^{86}\text{Rb}$  inkorporáció, ez azonban nem éri el a statisztikailag szignifikáns szintet.

NEUROLEPTIKUMOK ÉS  $1\text{mM}(\text{Li}^+)$  HATÁSARA BEKÖVETKEZŐ VÁLTOZÁSOK A cAMP SZINTEK BEN NORADRENALIN STIMULÁCIÓRA PULYKA VÖRÖSVÉRSEJTEKEN IN VITRO ( pH=7,4 ; Quabain= $10^{-4}\text{M}$  ; Ht= 20% )

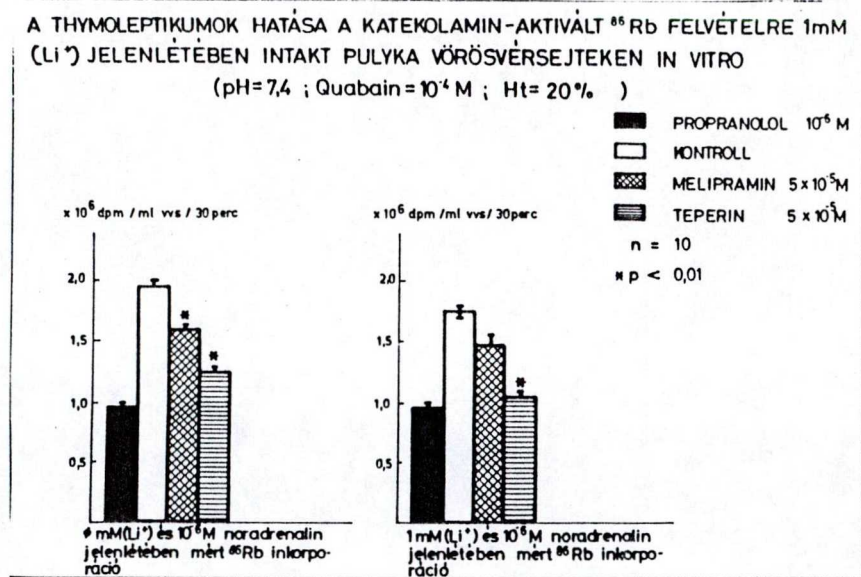


17. ábra:

A fenti ábra demonstrálja a noradrenalin-aktivált cAMP képződés változásait neuroleptikumok, valamint  $\text{Li}^+$  és neuroleptikumok együttes alkalmazásakor.

A Haloperidol és Hibernal  $5 \times 10^{-5}\text{M}$ -os koncentrációban szignifikánsan csökkentette a noradrenalin ( $10^{-6}\text{M}$ ) aktivált cAMP képződés mértékét  $\text{Li}^+$  mentes közegben.

Az  $1\text{mM} \{\text{Li}^+\}$ -t tartalmazó médiumban a lítiumion önálló hatása is megfigyelhető. A fent említett neuroleptikumok a  $\text{Li}^+$ -mal együtt adva az inkubáló elegyben; szintén jól érzékelhető a drogok receptorblokkoló hatása.

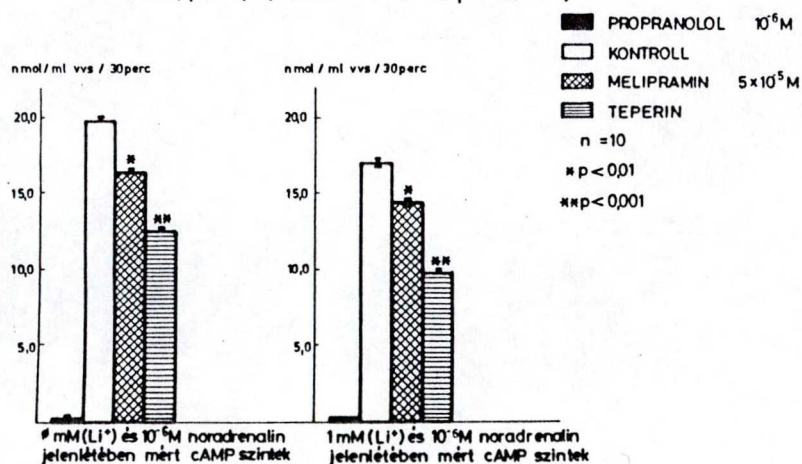


18. ábra:

A korábban ismertetett eredmények értelmében a lítium mentes médiumban a Melipramin és a Teperin jelentős mértékben csökkentik intakt pulyka vörösvérsejtek noradrenalin-aktivált  $^{86}\text{Rb}$  felvételét.

Az 1 mM  $\text{Li}^+$  koncentrációra beállított inkubáló oldatban a kismértékű  $\text{Li}^+$  hatás mellett, csak a Teperin  $^{86}\text{Rb}$  felvételt csökkentő hatása érvényesült.

A THYMOLEPTIKUMOK HATÁSA AZ 1mM (Li<sup>+</sup>) JELENLÉTÉBEN MÉRT NORADRENALIN STIMULÁLT cAMP SZINTEK VÁLTOZÁSAIRA INTAKT PULYKA VÖRÖSVÉRSEJTEKEN IN VITRO ( pH=7,4 ; Quabain= 10<sup>-4</sup>M ; Ht=20% )



19. ábra:

Láttuk, hogy a Teperin és a Melipramin  $5 \times 10^{-5}$  M-os koncentrációkban szignifikánsan csökkentették a noradrenalin aktivált cAMP képződést intakt pulyka vörösvérsejteken in vitro.

Ugyanakkor a Li<sup>+</sup> mellett már csak a Teperin hatása érvényesül erőteljesen.

### Megbeszélés, következtetések

Az affektív pszichózisok (pszichózis mániáka-depresszív, vagy bipoláris affektív pszichózis és a periódikus depresszió, vagy unipoláris affektív pszichózis) Noradrenerg elméletét (Schildkraut 1978) számos indirekt és direkt klinikai laboratóriumi és farmakológiai tanulmány támogatja.

Korai megfigyelés, hogy a Rausedil (Reserpin), amely széles körben alkalmazott vérnyomáscsökkentő a noradrenerg rendszer aktivitását csökkenti és mellékhatásként pszichiátriailag egészséges személyekben is súlyos, öngyilkossághoz vezető, depressziós állapotot eredményezett. Depressziós fázisokban kimutatták a noradrenalin metabolitjának MHP (3-metoxi-4-hidroxi-fenil-etil-glikol) koncentrációjának jelentős csökkenését, mind a liquor cerebrospinalisban, mind pedig a betegek vizeletében (Schildkraut, 1978).

A centrális noradrenerg rendszer működése által szabályozott hormonok, mint a Melatonin, Renin, Cortisol koncentrációja alacsonyabb (Lecrubier és mtsai, 1981).

Az is ismeretes, hogy a noradrenerg receptorok érzékenysége a normálisnál alacsonyabb (Friedman 1978). Mániás állapotban ugyanakkor a fentiekkel ellentétes biokémiai és farmakológiai eltéréseket írtak le (Wiel-Malherbe 1972).



Az antidepresszív hatású gyógyszerek terápiás hatásukat a centrális noradrenerg pályarendszer aktivitásának fokozása útján fejtik ki:

1. A noradrenalin preszinaptikus kiürülésének fokozása (Amphetamin hatású drogok) útján.
2. A preszinaptikus  $\alpha_2$  receptor bénítása révén (Mianserin).
3. A noradrenalin visszavétele útján (Melipramin származékok).
4. A noradrenalin metabolitikus lebontásának gátlása révén (MAO-bénítók).
5.  $\beta$ -adrenerg receptorok számának csökkenése révén (valamennyi antidepresszív hatású gyógyszer).

A  $\beta$ -adrenerg receptorfunkció gátlása az újabb vizsgálatok szerint klinikailag is értelmezi az antidepresszív hatás kifejlődését (Lecrubier és mtsai, 1981). Ezt az elméletet támogatják azok a kísérleti adatok, miszerint állatkísérletekben a propranolol előzetes adagolása kivédi a Melipramin által kiváltható magatartási változásokat (Santa és mtsai, 1979).

Saját vizsgálataink elsősorban a lítium és a neuro-, valamint a timoleptikumok  $\beta$ -adrenerg receptorhoz kapcsolt iontranszport és cAMP anyagcsere intakt sejteken történő hatásaira vonatkoznak.



A béta-adrenerg receptorhoz kapcsolt membránfolyamatok intakt sejteken történő vizsgálatára magvas madár vörösvérsejteket használtunk. Az ismertetett vizsgálatok azt igazolják, hogy ez a rendszer erre a célra alkalmas modell.

Irodalmi adatok szerint a receptorhoz kapcsolt adenil-cikláz enzim aktivációja és a  $K^+$  ionok transzportja egymással összefüggő folyamatok (Kregenow, 1977). Ezt saját vizsgálati eredményeink is megerősítették. A neuroleptikus hatású Hibernal és Haloperidol szignifikánsan csökkentette a noradrenalin-aktivált cAMP képződést és a  $^{86}Rb$  membránon keresztül történő átjutását.

*Ennek az eredménynek az adja meg a jelentőségét,* hogy a Haloperidol közismerten a dopaminerg receptor kompetitív inhibitora, ugyanakkor *viszont* szignifikánsan befolyásolja a béta-receptorokhoz kapcsolt membránfunkciókat is. Továbbá, hogy a pszichiátriai kórképekben (schizofréniában és affektív pszichózisban), tehát a limbikus rendszerhez tartozó előagyi struktúráknak és a frontális kéregig követhető n. ambiguus-ból kiinduló u.n. centrális noradrenerg pályarendszernek működészavara feltételezhető.

Ismeretes továbbá, hogy a neuroleptikus, megnyugtató hatású gyógyszerek (fenotiazin és butirofenon származékok) hatásmechanizmusa elsősorban a neurokémiai transzmisszió gátlásával, a posztzinaptikus membrán receptorainak blokkolásával

magyarázható. Különösen sokat vizsgálták ezt a dopamin receptorok esetében. Ezzel magyarázható a schizofrénia kezelésében észlelhető antipszichotikus hatásuk és a mellékhatásként megfigyelhető extrapiramidális tünetcsoport (rigoros izomtónus, remegés) megjelenése. Számos adat igazolja azonban, hogy schizofréniában és a hangulati élet kóros eltéréseire jellemező u.n. elsődleges affektív megbetegedésekben a noradrenerg pályarendszerek működészavara is kimutatható.

Az antidepresszív hatású pszichofarmakonok (timoleptikumok) hatásmechanizmusát egészen a hetvenes évek közepéig preszinaptikus támadásponttal magyarázták, miután egyértelműen igazolható volt, hogy az Imipramin (hazai gyári nevén Melipramin) gátolja a szinaptikus részbe felszabaduló ingeranyag-molekulák "visszavételét" a preszinaptikus membránon keresztül (6. ábra).

Ez a hatás azonban egyrészt a preszinaptikus sejt ingeranyag-szegénységét eredményezi, másrészt pedig a szinaptikus rész nagyon gazdag lesz szabad transzmitter molekulákban, ami megakadályozza, hogy a transzmissziós folyamat során elfoglalt, a posztszinaptikus membránon elhelyezkedő receptorok szabadabbá váljanak.

Ez a kép azonban nem felel meg annak a klinikai tapasztalatnak, hogy az antidepresszív hatás a gyógyszeradagolás után két-három hét múlva következik be. Az *ingeranyag-visszavételi mechanizmus gátlása csak az egyszeri gyógyszeradag hatását magyarázza meg, ami az antidepresszív kezelés elején humán anyagon is*

megfigyelhető /álmosóság, feltűnő nyugalom, rossz közérzet, szájszárazság, pupillatágulat/, azaz jelentkezik egy centrális depresszív hatás és mellékhatásként kellemetlen, paraszimpatikus tünetcsoport. A klinikailag is nyilvánvalóvá váló antidepresszív kezelés hatása a folyamatos terápia második, harmadik hetében mutatkozik, amikor a hangulati élet emelkedése észlelhető: készletelés, érdeklődés és tettekkészség fokozódik, azaz a depressziós tünetcsoport oldódik. Ez a hatás farmakológiailag a gyógyszer-tűrés (tolerancia) kialakulásával értelmezhető és biokémiai szinten a receptor-érzékenység megváltozására utal.

Ujabb irodalmi adatok szerint depressziós állapotban; a schizofreniával és mániás állapottal szemben egy elégtelenül működő, alulfunkcionáló centrális monoaminerg neuro-transzmissziós rendszer mutatható ki (Goodwin és Potter, 1979).

Ez a hetekig-hónapokig fennálló centrális monoamindepléció a poszt-szinaptikus membránban a receptor-érzékenység fokozódásához vezet (Frazer, 1974).

Mindezek alapján a kapott eredményeink, azaz a noradrenalin érzékeny cAMP szintézis csökkenése és a vele párhuzamosan kimutatható iontraszport redukció a neuroleptikumok noradrenerg pályarendszereket befolyásoló hatására utal. Megállapítható az is, hogy a béta-adrenerg receptorokhoz kapcsolt membránfolyamatok

neuroleptikumok határása történő gátlása intakt sejtekben is kimutatható.

Az antidepresszív hatású Melipramin és Teperin vizsgálataink szerint béta-adrenerg receptorral rendelkező intakt sejteken is gátolják a receptorhoz kapcsolt cAMP képződést és a  $^{86}\text{Rb}$  felvételt.

Adataink összefüggésbe hozhatók azokkal a klinikai farmakológiai tapasztalatokkal, miszerint az antidepresszív hatás időigényes (2-3 hét), tehát olyan effektusról van szó, amely egy tartós, gyógyszer által létrehozott kényszerszituációt eredményez. Celluláris szinten tehát egy olyan választ produkál, amely vagy magát a receptort, vagy a receptor által vezérelt celluláris folyamatokat befolyásolja (Pataky, 1978).

Vizsgálataink eredményei neuro-, és timoleptikumok és  $\text{Li}^+$ -ionok kombinációjával azt jelzik, hogy neuro- és timoleptikumok, valamint  $\text{Li}^+$  között funkcionális differenciák figyelhetők meg, ami komplex összefüggést jelent, ha a  $\text{Li}^+$  és a pszichotróp szerek hatását külön-külön vesszük figyelembe.

Eredményeink alapján valóban úgy tűnik, hogy az egyes hatások, melyek a receptor aktiválására és az iontranszport változásaira utalnak, a különféle hatásoktól ( $\text{Li}^+$ , pszichotróp szerek) komplex módon függenek. A pszichotróp gyógyszerek redukálták mind a cAMP képződést, mind a  $^{86}\text{Rb}$  felvételét, ami egyértelműen az adrenerg receptorok szerepére utal ezen szerek hatásmechanizmusának értelmezésében.

Goodwin (1974) szerint  $\text{Li}^+$  ionok alkalmazása noradrenalinnal aktivált rendszerben megnöveli a katekolaminok visszavételét a szinaptikus vezikulákba, így hatásosan csökkenti a mániás állapotokban feltételezett magas katekolamin szinteket. *Kísérleti eredményeinkben kiemelkedően szembetűnő, szignifikáns változás noradrenalin alkalmazása mellett 1 mM  $\text{Li}^+$  jelenlétében volt megfigyelhető.* A klinikumban, amennyiben a betegek  $\text{Li}^+$  koncentrációját 0,5-1,5 mM között tartják, ez jelenti a terápiás koncentráció tartományt, melyben a kedvező terápiás hatás kialakulása mellett a nemkívánatos mellékhatások még nem lépnek fel.

A receptor érzékenységének megváltozását okozhatják egyrészt, hogy a magasabb extracelluláris  $\text{Li}^+$  koncentráció miatt a sejtbe permeált  $\text{Li}^+$  ionok az elektrolitok egyensúlyát eltolják. Ezek a változások a receptoron, mint a membrán fehérjeelemén, is strukturális változást okozhatnak, amelynek következménye lehet, hogy a permeabilitás megnövekszik.

Geisler és mtsai (1981) eredményei támogatják az értekezésben kapott eredményeinket. Megállapították, hogy a  $\text{Li}^+$  terápiás koncentrációban jelentős mértékben gátolja a  $\beta$ -receptor funkcióhoz kapcsolt Adenyl-cyclase Enzim aktivitását az agyszövetben, pajzsmirigyben, valamint a vesében.

Az is igazolást nyert, hogy a lítium kezelés előben is gátolja a cAMP szintézist /patkány kísérletekben és humán vizsgálatokban egyaránt/.

Egyéb celluláris modell-rendszerekben, mint az izolált humán vérlemezkék és fehérvérsejtek, a lítium fenti  $\beta$ -receptorhoz kapcsolt cAMP szintézist gátló hatása kimutatható (Geisler 1981).

Összefoglalva az elmondottakat megállapítható, hogy eredményeink néhány adatot szolgáltatnak a klinikai gyakorlatban alkalmazott  $\text{Li}^+$  sók, neuro- és timoleptikumok hatásának megértéséhez, és ahhoz a tapasztalati tényhez, hogy ezeknek a szereknek miért van kedvező hatásuk az elsősorban noradrenerg pályarendszerek működészavarát mutató neuro-pszichiátriai kórképekben.

## Irodalomjegyzék

1. Bolis L., J. F. Hoffman, F. A. Leaf (1976): Membranes and disease, Raven Press, New York.
2. Brown, B.L., J.D.M. Albano, R.P. Ekins, A.M. Sgherzi (1971): A simple and sensitive saturation assay method for the measurement of adenosine 3':5'-cyclic monophosphate. Biochem, J. 121, 561-562.
3. Sutherland, E. W., Roll T.W. /1960/: The relation of adenosine 3'-5'-phosphate and phosphorylase to the actions of catecholamines and other hormones. Pharmacol. Rev. 12. 265-294.
4. Frazer, A. (1974): In the psychology of dperession: contemporary theory and research (Eds. R. Friedman, M.M. Katz) V.H. Winston and sons, Washington, 7-28.
5. Friedman M.J. (1978): Does receptor supersensitivity acompony depressive illness. Am. J. Psychiatry 135, 107-109.
6. Funder J. and J. O. Wieth (1974): Human red cell sodium and potassioum metabolic alcalosis. Scand. J. Clin. Lab. Invest. 34, 49-59.

7. Gardner J.D., H.L. Klaeveman, J.P. Bilezikian, G.D. Aurbach (1973): Effect of beta-adrenergic catecholamines on sodium transport in turkey erythrocytes. J. Biol. Chem. 248, 5590-5597.

8. Gardner J.D., H.L. Klaeveman, J.P. Bilezikian, G.D. Aurbach (1974): Stimulation of sodium transport in turkey erythrocytes by cyclic 3'-5'-AMP. Endocrinology 95, 499-507.

9. Gálfi Márta (1980): A  $\text{Li}^+$ -ionok hatása a  $^{86}\text{Rb}$  transzportra intakt pulyka vörösvérsejteken (Szeged). TDK. SZOTE. (Pályamunka)

10. Gálfi Márta (1981): A  $\beta$ -adrenerg receptorokhoz kapcsolt membrán folyamatok in vitro (1981 Szeged, TDK, SZOTE).

11. Gálfi Márta (1982):  $\beta$ -adrenerg receptorokhoz kapcsolt membránfolyamatok vizsgálta intakt sejteken in vitro (Szeged, pályamunka, SZOTE)

12. Gálfi Márta (1983): Phenotiazin és butiferonon származékok hatása a  $\beta$ -adrenerg receptorokhoz kapcsolt receptor funkciók vizsgálatában (Debrecen, Ifj. Kém. Konf.)



13. Gesiler, A., R. Klysner és R. Rosenberg, Lithium and Adenyl-cyclase. J. of Psychochem. Vol. 119. p. 147, /1981/.
14. Gárdos G. /1974/: In: Böszörményi Z., Cseh E., Gárdos G., Kertai P. eds.: Transport process in living organisms. Akad. Kiadó, Budapest.
15. Gershon, S., Shopsin, B.: (1973): Lithium ion: its role in psychiatric research and treatment. Plen. New York.
16. Kaczmarek L.K., Jennings K.R., Strumwasser F., Nairn A.C., Walter U., Wilson F.D., Greengrad, P. /1980/: Microinjection of catalytic subunit of cAMP-dependent protein kinase enclosed calcium action potential of bog cell neurons in cell culture. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 77, 7487-7491.
17. Goodwin, F., Petter, J. (1974): In the Psychology of depression: contemporary theory and research (Eds. R. Friedman, M.M. Katz) V.H. Winston and sons, Washington, 240-251.
18. Hodgkin A.L. és R.D. Keynes (1955): Active transport of cations in giant axons from sepia and Loligo. J. Physiol. 128: 26-60.

19. Janka Z., I. Szentistányi, A. Juhász, A. Rimanóczy (1980): Lithium influx into cultured neuronal cells at different extracellular ionic conditions. Proc. Eur. Soc. Neurochem. (Synaptic constituents in health and disease Bled. (Eds. M. Brzin, D. Sket, H. Bachelard, Mladinska Knjiga, Ljubljana, Pergamon Press, Oxford) Abstr. 671.

20. Kregenow F. M. (1977): Membrane transport in red cells (Eds. J. C. Ellory, W.L. Lew) Academic Press, London, New York, 384-426.

21. Lecrubier Y., A. J. Puech, H. Frances, F. Jauvent, D. Widlöcher: Beta-adrenergic stimulation and antidepressant activity. (In Recut Advances in the Treatment of Depression /Carlsson A.) Munksgoorol. Copenhagen 1981. pp. 173-178.

22. Meech R. W. (1976): in "Calcium in biological systems" (Ed. C.J. Duncan) Cambridge, Univ. Press, Cambridge, 161-191.

23. Mendels J. és A. Frazer (1973): Intracellular lithium concentration and clinical response: towards a membrane theory of depression. J. Psychiat. Res. 10, 9-18.

24. Mendels J. és A. Frazer (1974): Alterations in cell membrane activity in depression. *Am. J. Psychiat.* 131, 1240-1246.

25. Obiols J., C. Ballus, E. González Monclus, J. Pujod (1979): "Biological psychiatry today", (Eds: Elsevier North-Holland Biomedical Press, Amsterdam, New York Oxford).

26. Rudolph, S.A., Greengord, P. /1974/: Regulation of protein phosphorylation and membrane permeability by beta adrenergic agents and cyclic adenosine 3'-5'-monophosphate in avian erythroeyte. *J. Biol. Chem.* 249. 5684-5687.

27. Robinson, G. A., Butcher, R. W., Sutherland, E. W. /1968/: Cyclic AMP. *Ann. Rev. Biochem.* 44. 831-887.

28. Rasmussen H. (1970): Cell communication, calcium , and cyclic adenosine monophosphate. *Science* 170, 404-412.

29. Santa M., H. Francés, Y. Lecrutier, A.J. Puech, P. Simon (1979): Antagonisme by d-l-propranolol of the imipramine effects in animals. *Eur. J. Pharmacol.* 60. 105.

30. Schildkraut, J.J. 1978. Current status of the catecholamine hypothesis of affective disorders. In Lipton, M. A., A. Di Macio-, K. F. Killaim (eds.), Psychopharmacology. Age neration of progress. Raven Press, 1223-1234.

31. Szekeres L. (1980): Orvosi gyógyszerstan, Medicina, Budapest pp. 223-238, pp. 247-251.

32. Szentistványi I. (1977): Cellularis iontranszort affektiv pszichozisokban. Kandidátusi értekezés.

33. Szentistványi I., Z. Janka, Á. Rimanóczy, L. Latzkovits, A. Juhász (1980): Comparison of lithium and sodium transports in primary cultures of dissociated brain cells. Cell. Mol. Biol. 25, 315-321.

34. Szentistványi I. és Z. Janka (1979): Correlation between the lithium ratio and Na-dependent Li transport of red blood cells during lithium profilaxis. Biol. Psychiat. 14, 973-977.

35. Wiley J. és R. A. Cooper (1974): A furosemide-sensitive contransport of sodium plus potassium in the human red cell. J. Clin. Invest. 53, 745-755.

36. Wyatt R.J., J. C. Gillin, D.M. Stoff, E.A. Moja, J. R. Tinklenberg (1977): In neuroregulators and psychiatrio disorders (Eds. E. Usdin, D. Hamburg, J. Barchas) Oxford University Press, New York, pp. 31-45.

37. Weil-Malherbe, H., /1972/: In: Lajtha, A. (: eds). Handboock of Neurochemistry, Vol. 7. Plen. New York, pp. 371.