

(33)

Wpływ pobudzenia receptorów dopaminowych D_1 i D_2 ciał kolankowatych bocznych na wzrokowe potencjały wywołane błyskiem u szczurów

The influence of stimulation dopaminergic D_1 i D_2 receptors in lateral geniculate body by flash visual evoked potentials (FVEP) in rats

Agata R. Plech¹, Ewa Herba¹, Dorota Pojda-Wilczek¹,
Katarzyna Makowiecka-Obidzińska¹, Stefan M. Pojda¹, Andrzej Plech²

¹ Z Katedry i Oddziału Klinicznego Okulistyki w Bytomiu Śląskiej Akademii Medycznej w Katowicach
Kierownik: prof. dr hab. n. med. Stefan M. Pojda

² Z Katedry i Zakładu Farmakologii w Zabrze-Rokitnicy Śląskiej Akademii Medycznej w Katowicach
Kierownik: prof. dr hab. n. med. Ryszard Brus

Summary: Purpose: The topic of this paper is to define the influence of stimulation dopaminergic D_1 i D_2 receptors in lateral geniculate body by flash visual evoked potentials (FVEP).
Material and methods: Wistar rats were examined. There were stereotaxically implanted with guide canula into the lateral geniculate body to inject substances and with VEPs electrodes on the skull and on the surface of visual cortex. VEPs curve before and after injection into the lateral geniculate body: 0.9% NaCl, agonists of dopamine receptors D_1 – SKF 38393, and D_2 Quinpirole and also the same agonist after antagonists D_1 – SCH 23390, i D_2 Sulpiride were analyzed.
Results: Stimulating receptors D_1 in the lateral geniculate body cause amplitude increase and shortness of latency. Quinpirole, agonist of D_2 receptor do not significant change FVEPs curve.
Conclusions: Stimulation of D_1 receptors in the lateral geniculate body can improve visual transmission through it and response in the occipital cortex.

Słowa kluczowe: wzrokowe potencjały wywołane, ciała kolankowate boczne, dopamina, szczury.
Key words: visual evoked potentials, lateral geniculate body, dopamine, rats.

Ciała kolankowate boczne wzgórza mózgu są miejscem przekazywania oraz integracji wrażenia wzrokowego. W ich obrębie znaleziono receptory dopaminowe D_1 i D_2 . Poglądy badaczy dotyczące rozkładu receptorów dopaminowych w ciałach kolankowatych bocznych wzgórza nie są jednoznaczne. Civelli oraz Young i Wilcox stwierdzili metodami histochemicznymi obecność w ciałach kolankowatych bocznych przede wszystkim receptorów dopaminowych D_1 i mniejszą ilość receptorów D_2 (1,2). Na podstawie prowadzonych przez nas badań stwierdziliśmy, że dopamina (DA) podana do ciała kolankowatego bocznego powoduje zwolnienie przewodnictwa bodźców wzrokowych wyrażone wydłużeniem latencji załamek negatywnych i pozytywnych oraz poprawę odpowiedzi wzrokowej kory mózgowej manifestującą się zwiększeniem amplitudy N_1 oraz $\delta N_1 P_1$ (3).

Cel pracy

Celem obecnej pracy jest określenie wpływu pobudzenia receptorów dopaminowych D_1 i D_2 ciał kolankowatych bocznych na wzrokowe potencjały wywołane błyskiem (FVEP) u szczurów.

Metodyka

Doświadczenia były przeprowadzone na dorosłych szczurach szczepu Wistar o masie ciała 220-325 g. Siedem dni przed planowanymi doświadczeniami szczury znieczulano wodzianem chlorału (POCH, Gliwice) (300 mg/kg m.c. ip – czyli 0,3 ml 10% roztworu/100 g m.c.). Ich głowę umieszczano w aparacie stereotaksycznym (COMT, Białystok). Po odślonięciu kości nawiercano otwór w pokrywie czaszki o średnicy 1 mm w odległości 3,5 mm w prawo od szwu strzałkowego i 3 mm do tyłu od prawego szwu wieńcowego. Przez otwór na głębokość 4 mm wprowadzano kaniulę prowadzącą (C315 Plastic One, Roanoke VA, USA) 1 mm ponad planowanym miejscem wstrzyknięcia do prawego ciała kolankowatego bocznego. Ponadto umieszczano 2 elektrody: czynną na oponę twardą w okolicy kory wzrokowej, przez otwór w pokrywie czaszki oraz na kość pokrywy czaszki w okolicy międzyocznej elektrodę bierną.

Po 7 dniach od zabiegu szczury ponownie znieczulano wodzianem chlorału (300 mg/kg m.c. ip) i elektrody podłączano do aparatu elektrofizjologicznego UTAS-1000 (LKC Systems

inc. USA). Po rozszerzeniu źrenic 1% tropikamidem oraz rozwarciu szpar powiekowych szwami założonymi na brzegi powiek zwierzę przechodziło 20-, 30-minutowy okres adaptacji. Następnie przez 30 min w odstępach co 5 min rejestrowano FVEP standardowymi błyskami w pełnym polu widzenia według programu Epic-4. Wynik uśredniano ze 150 pojedynczych odpowiedzi. Do kaniuli implantowanej do prawego ciała kolankowatego bocznego wprowadzano kaniulę wstrzykującą długości 6 mm i podawano mikrostrzykawką typu Hamilton 1 µl 0,9% roztworu NaCl i w odstępie 5 min ponownie rejestrowano FVEP (średnia ze 150 pojedynczych odpowiedzi), oceniając efekt stosowanego w doświadczeniu nośnika. Następnie podawano do ciała kolankowatego bocznego w stałej objętości 1 µl roztwory następujących substancji:

- grupa 1. – SKF 38393 (agonista receptorów D₁) w dwóch dawkach: 1 i 5 nmoli,
- grupa 2 – Kwinpirol (agonista receptorów D₂) w dwóch dawkach: 1 i 5 nmoli,
- grupa 3. – SCH 23390 (antagonista receptorów D₁) w dawce 5 nmoli, a po upływie 15 minut ekwimolarną dawkę (5 nmoli) SKF 38393,
- grupa 4. – SCH 23390 (antagonista receptorów D₁) w dawce 5 nmoli, a po upływie 15 minut ekwimolarną dawkę (5 nmoli) DA,
- grupa 5. – Sulpiryd (antagonista receptorów D₂) w dawce 5 nmoli, a po upływie 15 minut ekwimolarną dawkę (5 nmoli) DA.

Po podaniu każdej dawki substancji rejestrowano FVEP przez 1 godzinę w odstępach 5-minutowych.

Za wartość kontrolną przyjęto zapisy FVEP po podaniu roztworu soli fizjologicznej do ciała kolankowatego bocznego u wszystkich szczurów. Ze względu na duże różnice wartości wyjściowych u poszczególnych zwierząt uzyskane wartości bezwzględne wy-

ników wyrażono w odsetkach w stosunku do średniej wartości wyjściowej poszczególnych składowych FVEP dla każdego zwierzęcia oddzielnie. Każde zwierzę stanowiło więc dla siebie układ odniesienia. Za średnią wartość wyjściową FVEP przyjęto średnią arytmetyczną z 6 kolejnych wartości wyjściowych. Była to norma, czyli 100% odpowiedzi FVEP dla danego zwierzęcia.

Otrzymane wyniki poddano analizie statystycznej za pomocą analizy wariancji (ANOVA), a znamienność różnic średnich wartości między grupą kontrolną a doświadczalną – za pomocą testu U-Manna-Whitney’a.

Wyniki (tab. I)

Łącznie do badań użyto 41 szczurów, 25 badanych było dwu- lub trzykrotnie w odstępach tygodniowych, każdorazowo po podaniu innej substancji.

W grupie kontrolnej (0,9% NaCl) nie zaobserwowano zmian w zakresie parametrów krzywej FVEP.

Wyniki w grupie 1.: zwierzęta, którym podano SKF 38393

Latencja załamka N₁ po podaniu 1 nmola SKF 38393 skróciła się o 4-8%, a po 5 nmolach – o 8-13% od 5. min do końca obserwacji. Jednocześnie wystąpiło skrócenie latencji załamka P₁ odpowiednio o 2-6% i o 6-10%. Wszystkie różnice są statystycznie istotne. Amplituda N₁ w grupie badanej rośnie znamienne w stosunku do kontroli we wszystkich odstępach czasu, po podaniu 1 nmola SKF 38393 o 28-51%, a po 5 nmolach o 34-67%. Zaobserwowano wzrost amplitudy załamka P₁ mierzonego od linii izoelektrycznej przez cały czas badania. Po mniejszej dawce SKF 38393 o 16-51% w stosunku do wartości wyjściowych. Poziom istotności p < 0,05 w stosunku do kontroli uzyskano w 5., 15., 40., 45. i 55. min. Po dawce wyższej amplituda rośnie maksymalnie o 16-43%, a wyniki są znamienne w 5., 10., 15., 20., 40. i 60. min obserwacji. Amplituda załamka δN₁P₁ wzrosła po podaniu 1 nmola SKF 38393 o 27-46%, a po

	Średnia latencja N ₁	Średnia latencja P ₁	Średnia amplituda N ₁	Średnia amplituda N ₁ P ₁
wartości wyjściowe	56	77	36	57
GRUPA 1. po podaniu 1 i 5 nmoli SKF38393	53 (SD=5) 51 (SD=5)	74 (SD=6) 71 (SD=5)	49 (SD=13) 54(SD=12)	76 (SD=17) 74 (SD=15)
GRUPA 2. po podaniu 1 i 5 nmoli Kwinpirolu	56 (SD=5) 57 (SD=7)	77 (SD=6) 78 (SD=7)	37 (SD=8) 35 (SD=9)	57 (SD=9) 56 (SD=12)
GRUPA 3. 5 nmoli SCH i po 15 min 5 nmoli SKF	56 (SD=4)	77 (SD=5)	33 (SD=11)	55 (SD=12)
GRUPA 4. 5 nmoli SCH i po 15 min 5 nmoli DA	59 (SD=7)	80 (SD=11)	41 (SD=13)	58 (SD=9)
GRUPA 5. 5 nmoli Sulpirydu i po 15 min 5 nmoli DA	51 (SD=6)	72 (SD=6)	52 (SD=18)	69 (SD=13)

Tab. I. Średnie wartości bezwzględne poszczególnych parametrów FVEP oraz odchylenia standardowe w poszczególnych grupach badanych.
Tab. I. Average level FVEP parameters.

5 nmolach o 34-49% we wszystkich przedziałach czasowych. Wyniki są statystycznie znamienne w stosunku do kontroli.

Wyniki w grupie 2.: zwierzęta, którym podano kwinirolol

Podanie do ciała kolankowatego bocznego kwinirololu nie wpływa w sposób istotny na latencję załamków krzywej FVEP. Amplitudy załamków N_1 oraz P_1 wahają się w granicach 94-109% wartości wyjściowych, a różnice nie są statystycznie znamienne.

Wyniki w grupie 3.: zwierzęta, którym podano SCH 23390, oraz po 15 min SKF 38393 w ilości ekwimolarnej

Stosując 15 min przed podaniem agonisty receptorów D_1 ich antagonistę SCH 23390, całkowicie zablokowano działanie agonisty (SKF 38393), to znaczy latencja załamków N_1 i P_1 nie zmieniła się i oscylowała wokół 100% ($\pm 2\%$). Między 30. a 60. min tej obserwacji różnica była statystycznie istotna. Amplituda załamka N_1 po podaniu agonisty w 15 min po iniekcji antagonisty spadła do wartości wyjściowych i poniżej nich (103-85%). Porównując ten efekt w stosunku do grupy z SKF 38393 bez blokady, uzyskano znamienność statystyczną w 25., 35., 40. i 50.-60. min. Amplituda P_1 wahała się w granicach 81-110% wartości wyjściowych. Efekt SKF 38393 podanego bez antagonisty został całkowicie zablokowany i nawet częściowo odwrócony, a wynik był znamienny statystycznie w 10., 15. i 40. min. Amplituda załamka P_1 mierzonego od szczytu N_1 , która po SKF 38393 wzrosła do około 140% wartości wyjściowych po podaniu obu związków, spadła poniżej wartości wyjściowych. Reakcja ta była statystycznie istotna przez cały okres obserwacji. Tak więc blokada SKF 38393 po uprzednim podaniu SCH 23390 była całkowita.

Wyniki w grupie 4.: zwierzęta, którym podano SCH23390, oraz po 15 min DA w ilości ekwimolarnej

Podanie DA w 15 min po SCH 23390 powoduje wydłużenie latencji załamków krzywej FVEP do 107% dla załamka N_1 i 104% dla załamka P_1 . Tak więc podanie antagonisty receptorów D_1 nie zablokowało wpływu DA na latencję. Amplituda załamka N_1 po samej DA wzrasta o blisko 20-30%. Po DA podanej po SCH 23390 rośnie średnio o 15% i przez cały okres obserwacji jest niższa niż po samej DA. Podobnie jak w grupie zwierząt, którym podawano wyłącznie DA, zaobserwowano obniżenie amplitudy załamka P_1 do 78% (w 25. min). Amplituda załamka N_1, P_1 po samej DA wzrosła. W układzie SCH 23390 i DA nie zmieniła się istotnie w stosunku do grupy kontrolnej. Wpływ DA na amplitudę $\delta N_1, P_1$ został więc całkowicie zahamowany przez uprzednie podanie antagonisty receptorów D_1 .

Wyniki w grupie 5.: zwierzęta, którym podano Sulpiryd, oraz po 15 min DA w ilości ekwimolarnej

Zablokowanie receptorów D_2 przez Sulpiryd, a następnie podanie DA powoduje podobne zmiany FVEP jak pobudzenie receptorów D_1 . Latencja obu załamków krzywej FVEP ulega skróceniu: N_1 do 97-93%, a P_1 do 97-94% w stosunku do wartości wyjściowych. Amplituda załamka N_1 wzrasta znacznie, bo od 118% w 5. min do 178% w 30. min doświadczenia. Wyniki są istotne statystycznie w stosunku do grupy kontrolnej przez cały czas obserwacji. Amplituda P_1 nieznacznie wzrasta w stosunku do grupy kontrolnej do 45. min obserwacji. Efekt nie jest statystycznie znamienny. Amplituda załamka $\delta N_1, P_1$ wzrasta stabilnie od 110-129% wartości wyjściowych, ale wyniki nie są statystycznie istotne.

Dyskusja

Modelowy agonista receptorów D_1 , jakim jest preparat SKF 38393, podany do ciała kolankowatego bocznego spowodował statystycznie znamienne skrócenie latencji oraz wzrost amplitudy obu analizowanych załamków. Zatem FVEP się poprawił. Swoistość tego efektu potwierdza zablokowanie go przez antagonistę receptorów D_1 – związek SCH 23390. Wyniki tych badań pośrednio potwierdza także fakt, że efekt DA był nieco silniej zaznaczony po uprzednim zablokowaniu receptorów D_2 w ciele kolankowatym bocznym przez sulpiryd, selektywnie blokujący receptory dopaminowe D_2 . Nie można wykluczyć wpływu na przebieg potencjałów FVEP również innych podtypów receptorów dopaminowych lub innych układów neuroprzebieżników. Jednak dotąd nie opublikowano takich badań.

Wyniki doświadczeń przedstawionych w tej pracy wskazują na przeciwstawne działanie na przewodnictwo potencjałów wzrokowych wyrażanych latencją załamków FVEP wstrzyknięć do ciała kolankowatego bocznego dopaminy i agonisty receptorów dopaminowych D_1 . Po podaniu DA załamki pojawiają się później, natomiast po iniekcji SKF 38393 – swoistego agonisty receptorów D_1 latencja ulega skróceniu. Swoisty agonista receptorów D_2 – kwinirolol podany do ciała kolankowatego bocznego nie miał istotnego wpływu ani na latencję załamków, ani na ich amplitudę ($\delta N_1, P_1$). Świadczy to może o tym, że być może w ciałach kolankowatych bocznych mogą istnieć jeszcze inne niż D_1 i D_2 receptory, których pobudzenie przez DA hamuje transmisję wzrokową.

Chcąc pośrednio potwierdzić brak efektu pobudzenia receptorów D_2 , przeprowadzono doświadczenia, w których najpierw wstrzyknięto antagonistę receptorów dopaminowych D_1 , związek SCH 23390, a następnie DA. Taka kolejność wstrzyknięć substancji pozwoliła na wyłączenie pobudzenia receptora D_1 i uzyskanie reakcji nieblokowanego receptora D_2 pobudzanego przez dopaminę. Efekt tych doświadczeń był odmienny. W porównaniu z działaniem SKF 38393 stwierdzono wydłużenie latencji załamków oraz wzrost amplitud N_1 i $\delta N_1, P_1$. Ten rezultat pozwala przypuszczać, że w tym doświadczeniu może zachodzić proces wstecznego hamowania pobudzenia czy spowolnienia transmisji (wydłużenie latencji załamków) we włóknach neuronów ciała kolankowatego bocznego.

Albrecht i wsp., badając potencjał wywołany w komórkach nerwowych ciała kolankowatego bocznego po podaniu jednocześnie do neuronów za pomocą jontoforezy DA, jej agonistów i antagonistów receptorów dopaminowych, uzyskali odmiennie wyniki (4). Stwierdzili, że pobudzenie receptorów dopaminowych D_1 powoduje zmniejszenie odpowiedzi, natomiast po stymulacji receptorów D_2 – jej wzrost. Przeciwstawne wyniki badań są prawdopodobnie spowodowane innym miejscem rejestracji potencjałów wywołanych. W badaniach Albrechta, przeprowadzanych metodami histochemicznymi, były to pojedyncze neurony ciała kolankowatego bocznego. W obecnych badaniach rejestrowano odpowiedź powstającą w korze wzrokowej po podaniu substancji narządowych do ciała kolankowatego bocznego. Odmienność wyników może świadczyć o tym, że impuls na poziomie ciała kolankowatego bocznego ma polaryzację inną niż w korze mózgowej.

Podany do ciała kolankowatego bocznego roztwór dopaminy lub agonisty receptorów dopaminowych może pobudzać

zarówno receptor postsynaptyczny D₁, jak i autoreceptor dopaminowy położony na ciele komórki lub części presynaptycznej receptora dopaminowego. Autoreceptory uczestniczą w regulacji transmisji synaptycznej (5). Pobudzenie tych receptorów zmniejsza aktywność elektryczną neuronów dopaminowych, zmniejszając w nich syntezę i uwalnianie dopaminy oraz w efekcie obniżając aktywność ruchową myszy, co jest wyrazem zmniejszonej dopaminowej transmisji synaptycznej (6). Natomiast pobudzenie postsynaptycznej części receptora dopaminowego za pomocą dużych dawek jego agonistów wywołuje efekt odwrotny. Zwiększa aktywność neuronów dopaminowych oraz aktywność ruchową zwierząt (7). Wyniki badań przedstawionych w tej pracy wskazują, że stwierdzone zmiany FVEP mogły wystąpić w efekcie pobudzenia receptora postsynaptycznego D₁.

Wnioski

- Pobudzenie receptorów D₁ w ciałach kolankowatych bocznych przez wzrost amplitudy i skrócenie latencji załamków krzywej FVEP może poprawiać transmisję i percepcję wzrokową na poziomie kory potylicznej mózgowia.
- Pobudzenie receptorów D₂ (przez SCH 23390) w ciałach kolankowatych bocznych nie wpływa w istotny sposób na zapis wzrokowych potencjałów wywołanych.
- Dopamina, działająca na oba typy receptorów, w ciałach kolankowatych bocznych ma częściowo odmienne działanie, wydłuża latencje oraz powoduje wzrost amplitudy załamków krzywej FVEP (wyniki te prezentowane są w odrębnej pracy).

PIŚMIENNICTWO:

1. Civelli O., Bunzow J.R., Grandy D.K.: *Molecular diversity of the dopamine receptors*. Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol., 1993, 32, 281-307.
2. Young K.A., Wicox R.E.: *Characterization of D₂ receptors and dopamine levels in the thalamus of the rats*. Live Sci., 1991, 48, 1845-1852.
3. Plech A.R., Herba E., Pojda-Wilczek D., Makowiecka-Obidzińska K., Pojda S., Plech A.: *Role of dopaminergic receptor of the lateral geniculate nucleus in the visual transmission (VEP) in rats*. Pol. J. Pharmacol., 2002, 54, 199.
4. Albrecht D., Quaschling U., Zippel U., Davidova H.: *Effects of dopamine on neurons of the lateral geniculate nucleus: an iontophoretic study*. Synapse, 1996, 23, 70-78.
5. Aghajanian G.K., Bunney B.S.: *Dopamine "autoreceptors": Pharmacological characterization by microiontophoretic single cell recording studies*. Naunyn-Schmiedeb. Arch. Pharmacol., 1977, 279, 1-23.
6. Strombom U.: *Catecholamine receptor agonists: effects on motor activity and rate of tyrosine hydroxylation in mouse brain*. Naunyn-Schmiedeb. Arch. Pharmacol., 1976, 292, 167-174.
7. Starr B.S., Starr M.S.: *Differential effects of dopamine D₁ and D₂ agonists and antagonists on velocity of movement, rearing, and grooming in the mouse*. Neuropharmacol., 1986, 25, 455-463.

Praca wpłynęła do Redakcji 1.04.2005 r. (745).
Zakwalifikowano do druku 24.04.2006 r.

Adres do korespondencji (Reprint requests to):

dr n. med. Agata R. Plech
Katedra i Oddział Kliniczny Okulistyki ŚAM
w Katowicach
Szpital Specjalistyczny nr 1
ul. Żeromskiego 7
41-902 Bytom