

Zakład Farmakologii. Instytut Patologii Klinicznej. Wydział Lekarski.
Akademia Medyczna w Lublinie
Kierownik: prof. dr Zdzisław Kleinrok

Zdzisław KLEINROK, Marian WIEŁOSZ

Wpływ atropiny i skopolaminy na ośrodkowe działanie 5-hydroksytryptaminy u szczurów

Влияние атропина и скополамина на центральное действие 5-гидрокситриптамина
у крыс

Central Action of 5-Hydroxytryptamine in Rat Treated with Atropine
and Scopolamine

W ostatnich latach obserwuje się znaczne zainteresowanie rolą ośrodkowych mechanizmów serotoninowych w zachowaniu się zwierząt (3, 17, 19, 21) i ludzi (22). W piśmiennictwie dotyczącym obwodowego działania 5-HT istnieją sugestie, że działanie jej może być znoszone przez obwodowo stosowane cholinolityki (5, 7). Celem obecnych badań jest prześledzenie wpływu 5-HT na zachowanie się szczurów poddanych działaniu cholinolityków.

METODY

Doświadczenia przeprowadzono na białych szczurach, szczepu Wistar, obu płci, ciężaru 140—200 g. At, Sk i 5-HT podawano do prawej komory bocznej mózgu (i.v.c.) w stałej objętości 20 μ l/szczura wg metody Hermana (8). Amfetaminę wstrzykiwano podskórnie (s.c.), a pozostałe związki dootrzewnowo (i.p.).

Wpływ na ruchliwość spontaniczną badano metodą fotokomórkową przez 60 min., w 10 min. po podaniu 5-HT, a 70 min. po podaniu At lub Sk. D,l-amfetaminę (2 mg/kg s.c.) podawano jednocześnie z 5-HT 60 min. po podaniu cholinolityków. Ruchliwość mierzono bezpośrednio po podaniu tych substancji przez 90 min.

Wpływ na aktywność poznawczą oceniano w ciągu 5 min. przy pomocy testu wolnego pola (6), 15 min. po podaniu 5-HT, a 75 min. po At lub Sk.

Wpływ na temperaturę ciała szczurów normotermicznych. Temperaturę przy użyciu termometru termistorowego mierzono w odbyticy dwukrotnie w odstępach 30 min. przed podaniem At. Po 60 min. od jej podania temperaturę mierzono ponownie. Średnią z tego pomiaru przyjmowano za temperaturę wyjściową. Następnie podawano 5-HT i mierzono temperaturę po 30, 60, 120 i 180 min.

Wpływ na stereotypię amfetaminową. D-amfetaminę (4 mg/kg s.c.) stosowano jednocześnie z 5-HT, 60 min. po podaniu At, Sk lub rozpuszczalnika. Stopień stereotypii oceniano co 30 min. wg Zebrowskiej i współpr. (25).

Wpływ na działanie heksobarbitalu. 5-HT podawano łącznie z heksobarbitem (70 mg/kg i.p.) 60 min. po podaniu At. Za kryterium działania przyjmowano czas

trwania narkozy, tj. czas upływający od momentu zaniku do powrotu odruchu postawy.

Wpływ na drgawki elektryczne. Maksymalny szok elektryczny wywoływano przy pomocy elektrod rogówkowych wg Swinyarda i współpr. (16). Stosowano prąd zmienny o natężeniu 150 mA i czasie trwania bodźca 0,3 sek. Za kryterium działania przyjmowano wystąpienie skurczu tonicznego kończyn tylnych oraz czas jego trwania. 5-HT podawano 75 min. po podaniu At, a drgawki elektryczne wywoływano po 90 min. od podanej At.

Wpływ na poziom noradrenaliny (NA) i dopaminy (DA). Zawartość NA i DA w całym mózgu oznaczano metodą spektrofлуorometryczną Changa (4), Sk podawano 60 min. przed 5-HT. Szczury zabijano przy pomocy gilotyny 30 min. po podaniu 5-HT.

Wpływ na aktywność monoaminooksydazy (MAO) w mózgu. Szczury zabijano w 30 min. po podaniu 5-HT i w 90 min. po podaniu Sk. Mózgi homogenizowano w buforze fosforanowym o pH 7,5 w stosunku 1:2. Następnie 1 ml homogenatu przenoszono do naczynka reakcyjnego i oznaczano aktywność MAO metodą manometryczną (12) przy użyciu aparatu Warburga. Oznaczenia wykonywano w obecności tyraminy jako substratu oraz semikarbazdu jako inhibitora dwuaminooksydazy i roztworu KCN jako inhibitora oksydazy cytochromowej. Odczytów dokonywano co 5 min. w ciągu 30 min., a otrzymane wyniki przeliczano na 1 μ l O₂ (1 ml homogenatu) odpowiadający 0,333 g świeżej tkanki mózgowej. Poszczególne grupy doświadczalne liczyły 6–12 szczurów. Ocenę statystyczną uzyskanych wyników przeprowadzono przy użyciu t-testu Studenta,

WYNIKI

Wpływ na ruchliwość spontaniczną (tab. 1).

5-HT (250 μ g) zmniejsza ruchliwość spontaniczną szczurów po 30 i 60 min. Dawki mniejsze nie wywierają tego działania. Sk (10 i 100 μ g) zwiększa ruchliwość szczurów od 100 do 400 %. Podobne działanie lecz znacznie słabsze wywiera At (100 μ g). Sedatywne działanie 5-HT nie występuje po łącznym jej podaniu z At (100 μ g), natomiast utrzymuje się po jej podaniu z At (10 μ g) oraz Sk (10 i 100 μ g).

Wpływ na aktywność poznawczą (ryc. 1).

5-HT (250 μ g) hamuje aktywność poznawczą szczurów we wszystkich badanych parametrach testu wolnego pola. At i Sk (10 i 100 μ g) jedynie zmniejszają ilość epizodów mycia się, na pozostałe parametry nie wpływają. At i Sk podane łącznie z 5-HT znoszą jej hamujące działanie w ilości przekroczonych kwadratów i ilości epizodów mycia się, natomiast nie wpływają na ilość wspanięć oraz ilość wydalonych grudek kału.

Wpływ na temperaturę ciała (ryc. 2).

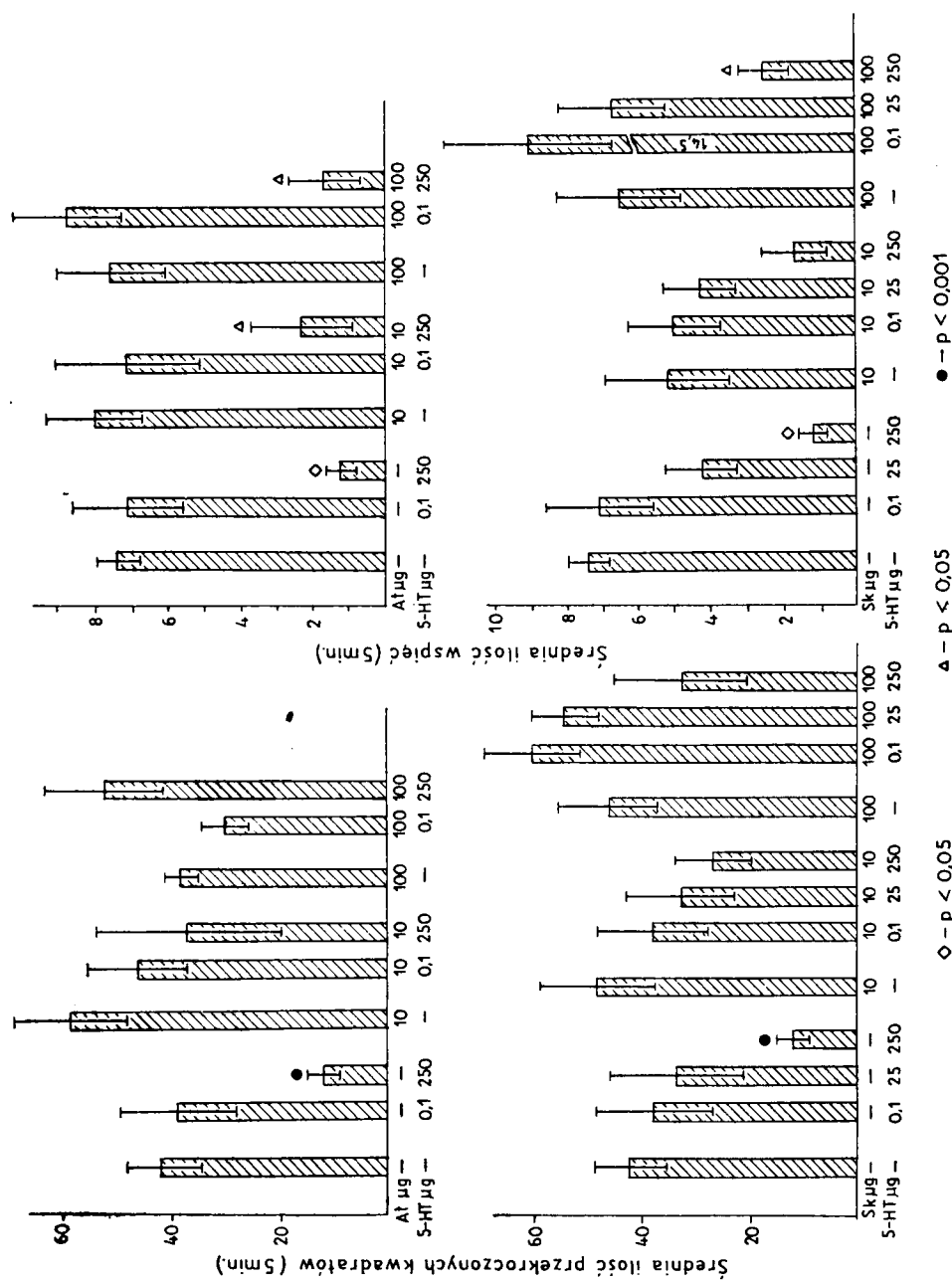
5-HT (250 μ g) obniża temperaturę ciała szczurów normotermicznych. Maksymalne spadki temperatury ciała ok. 3°C występują po 30 min. od podania 5-HT. Po 2 godz. ciepota ciała powraca do normy. At (10 μ g) nie wpływa, a w dawce (100 μ g) nieznacznie zwiększa temperaturę ciała. At

Tab. 1. Wpływ 5-hydrokсыtryptaminy (5-HT) na ruchliwość spontaniczną szczurów poddanych działaniu atropiny (At) i skopolaminy (Sk)

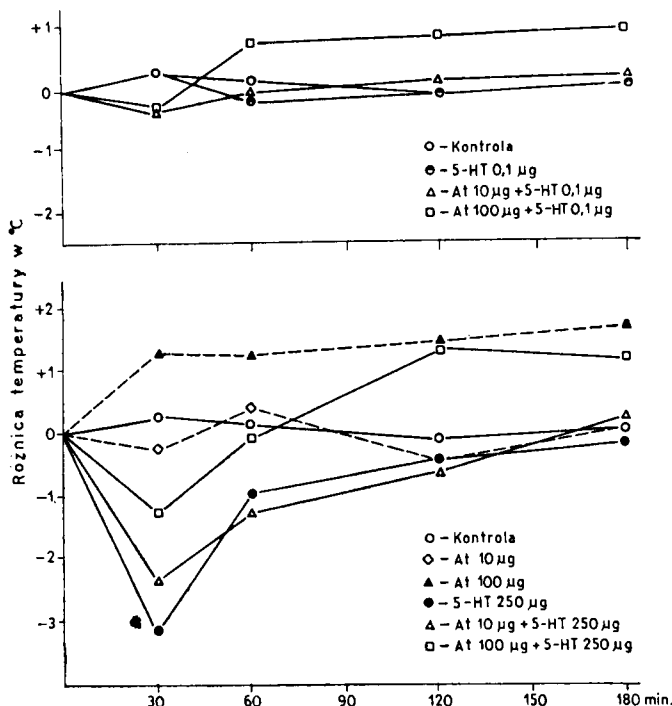
Effect of 5-hydroxytryptamine (5-HT) on the locomotor activity in rats treated with atropine (At) and scopolamine (Sc)

Podana substancja i.v.c. w $\mu\text{g/szczura}$		Ilość zwierząt w grupie	Średnia ilość ruchów $\pm\text{SE}$			
			30'		60'	
At	Sk	5-HT	wart. bezwzgl.	%	wart. bezwzgl.	%
—	—	—	132 $\pm$ 28,2	100,0	49 $\pm$ 9,5	100,0
—	—	0,1	118 $\pm$ 25,4	84,9	60 $\pm$ 9,7	122,4
—	—	25	102 $\pm$ 12,5	74,0	92 $\pm$ 20,9	187,7
—	—	250	26 $\pm$ 7,0**	19,7	23 $\pm$ 6,9*	46,9
10	—	—	169 $\pm$ 25,4	121,5	79 $\pm$ 20,2	161,2
100	—	—	99 $\pm$ 14,8	71,2	86 $\pm$ 13,5*	175,5
—	10	—	411 $\pm$ 25,8**	295,6	255 $\pm$ 17,6**	520,4
—	100	—	251 $\pm$ 48,1*	180,5	221 $\pm$ 62,9*	451,0
10	—	—	169 $\pm$ 25,4	100,0	79 $\pm$ 20,2	100,0
10	—	0,1	156 $\pm$ 30,7	92,3	122 $\pm$ 27,6	154,4
10	—	250	36 $\pm$ 5,4**	21,3	17 $\pm$ 4,9*	21,5
100	—	—	99 $\pm$ 14,8	100,0	86 $\pm$ 13,5	100,0
100	—	0,1	98 $\pm$ 10,3	98,9	98 $\pm$ 21,7	113,9
100	—	250	73 $\pm$ 16,5	73,7	61 $\pm$ 11,9	70,9
—	10	—	411 $\pm$ 25,8	100,0	255 $\pm$ 17,6	100,0
—	10	0,1	413 $\pm$ 30,5	100,4	119 $\pm$ 10,1**	46,6
—	10	25	436 $\pm$ 73,3	106,0	167 $\pm$ 46,9	65,4
—	10	250	178 $\pm$ 31,6**	43,3	173 $\pm$ 35,1*	67,8
—	100	—	251 $\pm$ 48,1	100,0	221 $\pm$ 62,9	100,0
—	100	0,1	260 $\pm$ 61,2	103,5	138 $\pm$ 53,5	62,4
—	100	25	182 $\pm$ 50,0	72,5	155 $\pm$ 68,9	70,1
—	100	250	56 $\pm$ 17,9**	22,3	132 $\pm$ 27,4	59,7

* — $p < 0,05$; ** — $p < 0,005$



Ryc. 1. Wpływ 5-hydrokсыtryptaminy (5-HT) na aktywność poznawczą szczurów poddanych działaniu atropiny (At) i skopolaminy (Sc)
 Effect of 5-hydroxytryptamine (5-HT) on the exploratory activity in rats treated with atropine (At) and scopolamine (Sc)



Ryc. 2. Wpływ 5-hydroksytryptaminy (5-HT) na temperaturę ciała szczurów podanych działaniu atropiny (At)

Effect of 5-hydroxytryptamine (5-HT) on the body temperature of rats treated with atropine (At)

(100 µg) zmniejsza hipotermiczne działanie 5-HT. Efekt ten nie występuje po łącznym podaniu At (10 µg) z 5-HT (250 µg).

Wpływ na hiperaktywność motoryczną wywołaną amfetaminą.

5-HT (250 µg) hamuje pobudzenie motoryczne wywołane d,l-amfetaminą jedynie w pierwszych 30 min. pomiaru. At (100 µg) znacznie nasila pobudzając działanie amfetaminy, natomiast podana łącznie z 5-HT częściowo zapobiega jej hamującemu działaniu na pobudzenie amfetaminowe.

Wpływ na stereotypię amfetaminową.

5-HT (0,1; 25 i 250 µg) nie wpływa na przebieg stereotypii wywołanej d-amfetaminą. At i Sk (10 i 100 µg) nasilają ten typ stereotypii. 5-HT podana łącznie z At lub Sk nie zmienia nasilonej przez cholinolityki stereotypii.

Wpływ na narkozę heksobarbitalową.

5-HT (0,1 i 250 µg) oraz At (10 i 100 µg) podane oddzielnie lub łącznie nie wpływają na czas trwania narkozy heksobarbitalowej.

Wpływ na drgawki elektryczne.

5-HT (0,1 i 250 μ g) oraz At (10 i 100 μ g) a także łączne podanie At i 5-HT nie zmieniają ilości zwierząt reagujących skurczem tonicznym kończyn tylnych ani też czasu trwania skurczu.

Wpływ na poziom NA i DA w mózgu (tab. 2).

5-HT (0,1; 25 i 250 μ g) nie zmienia w sposób istotny poziomu NA i DA w mózgu szczura. Sk (10 i 100 μ g) również nie zmienia poziomu Na, natomiast nieznacznie zwiększa poziom DA. 5-HT podana łącznie z Sk zapobiega wyżej wymienionym zwyżkom poziomu DA, a nie wywołuje istotnych zmian w poziomie NA. Wyjątkiem jest tu dawka 5-HT 0,1 μ g, która podana łącznie z Sk 100 μ g powoduje obniżenie poziomu NA.

Tab. 2. Wpływ 5-hydroksytryptaminy (5-HT) na poziom noradrenaliny (NA) i dopaminy (DA) w mózgu szczurów poddanych działaniu skopolaminy (Sk)
Effect of 5-hydroxytryptamine on the level of noradrenaline (NA) and dopamine (DA) in the brain of rats treated with scopolamine (Sc)

Podana substancja i.v.c. w μ g		Ilość zwierząt w grupie	Poziom NA		Poziom DA	
Sk	5-HT		ng/g $\pm$ SE	%	ng/g $\pm$ SE	%
—	—	14	450 $\pm$ 14	100,0	956 $\pm$ 18	100,0
—	0,1	7	436 $\pm$ 18	96,9	919 $\pm$ 27	96,1
—	25	7	433 $\pm$ 13	96,2	987 $\pm$ 29	103,2
—	250	6	474 $\pm$ 25	105,3	1008 $\pm$ 46	105,5
10	—	7	500 $\pm$ 19	111,1	1035 $\pm$ 46	108,2
100	—	7	425 $\pm$ 11	94,4	1087 $\pm$ 21**	114,1
10	—	7	500 $\pm$ 19	100,0	1035 $\pm$ 46	100,0
10	0,1	7	457 $\pm$ 11	91,4	928 $\pm$ 45	89,6
10	25	7	502 $\pm$ 23	98,2	1018 $\pm$ 33	98,3
10	250	6	465 $\pm$ 15	91,0	914 $\pm$ 20*	88,3
100	—	7	425 $\pm$ 11	100,0	1087 $\pm$ 21	100,0
100	0,1	6	388 $\pm$ 9*	91,3	914 $\pm$ 24**	84,2
100	250	7	438 $\pm$ 10	103,0	977 $\pm$ 18**	90,0
100	250	7	393 $\pm$ 25	92,7	829 $\pm$ 21	76,2

* — $p < 0,05$; ** — $p < 0,001$.

Wpływ na aktywność MAO.

5-HT (0,1 μ g) i Sk (10 μ g) nie wpływają na aktywność MAO. Dawki wyższe 5-HT (250 μ g) i Sk (100 μ g) zmniejszają aktywność MAO odpowiednio o 22 i 29%. Sk podana w dawce nie wpływającej na aktywność MAO jak również w dawce zmniejszającej aktywność MAO znosi hamujące działanie 5-HT na aktywność MAO.

OMÓWIENIE WYNIKÓW

Przeprowadzone doświadczenia wykazały, że 5-HT podana i.v.c. w dawkach (0,1 i 25 μ g) nie wywiera istotnego wpływu na zachowanie się zwierząt, natomiast podana w dawce (250 μ g) wywiera działanie de-

presyjne, które przejawia się zahamowaniem ruchliwości spontanicznej i poznawczej zwierząt, obniżaniem temperatury ciała oraz hamowaniem pobudzenia ruchowego wywołanego amfetaminą. Wyniki te są zgodne z danymi opisanymi w poprzedniej pracy, w której wykazaliśmy, że efekty te częściowo związane są ze stymulacją receptorów serotoninowych (9).

5-HT podana i.v.c. nie wpływa na stopień stereotypii ani na czas jej trwania, również w niewielkim stopniu hamuje pobudzenie motoryczne wywołane amfetaminą. Badania farmakologiczne i neurofizjologiczne przeprowadzone na różnych rodzajach zwierząt wykazały, że zarówno stereotypia, jak i pobudzenie amfetaminowe są wynikiem stymulacji ośrodkowych struktur katecholaminergicznych. Pobudzenie amfetaminowe jest konsekwencją wzmożonej aktywności układu noradrenergicznego w mózgu (20), natomiast stereotypia — układu dopaminergicznego (15). Brak wpływu 5-HT na ten typ pobudzenia pozwala sądzić, że 5-HT nie wywiera istotnego działania na struktury katecholaminergiczne mózgu.

Doświadczenia przeprowadzone przez różnych autorów wykazały, że rola 5-HT w zachowaniu się zwierząt jest niejasna. Jedni autorzy uważają ją za neurotransmitera o własnościach pobudzających (14) a inni hamujących (13). Brodie i Shore (2) przypisywali 5-HT rolę chemicznego transmittera w ośrodkowym układzie cholinergicznym.

Czynnikiem warunkującym zachowanie się zwierząt jest stosunek wolnej 5-HT do wolnej NA. Normalne zachowanie występuje wtedy, gdy poziom wolnej NA nieznacznie przewyższa poziom wolnej 5-HT. Jeżeli stosunek ten zmienia się na korzyść wolnej 5-HT, u zwierząt pojawiają się objawy sedacji. Według koncepcji Hessa opartej na obserwacjach zachowania się kotów podczas elektrycznego drażnienia podwzgórza i innych części mózgowia w ośrodkowym układzie nerwowym istnieją dwa przeciwstawne systemy, które nazwał on „ergotropowym” i „trofotropowym”. Systemy te są w równowadze i kontrolują podstawowe funkcje mózgu. Aktywacja systemu ergotropowego pobudza układ adrenergiczny i wywołuje aktywację stanów psychicznych, natomiast aktywacja systemu trofotropowego, który jest systemem ochronnym, powoduje przewagę układu cholinergicznego i wywołuje uspokojenie.

Badane cholinolityki At i Sk antagonizują hamująco działanie 5-HT w teście ruchliwości spontanicznej i poznawczej oraz w teście temperatury. Działanie to jest zbliżone do wyników uzyskanych przez innych autorów (5, 7), którzy wykazali odwrócenie efektów obwodowych 5-HT przez At. Tangari i wsp. (18) wykazali, że hipotermiczne działanie 5-HT pochodzi z aktywacji centralnych receptorów muskarynowych. Istnieją również dowody uzyskane *in vitro*, wg których wysokie stężenia 5-HT hamują mózgową esterażę acetylocholinową (1). Badania Zetlera

(23) a także i Kleinroka i wsp. (10, 11) wykazały, że hipotermia wywołana przez cholinomimetyki pochodzi głównie z pobudzenia ośrodkowych receptorów muskarynowych.

Na podstawie uzyskanych wyników, a także danych z piśmiennictwa (10) można sugerować, że efekty depresyjne obserwowane po podaniu 5-HT mogą być wynikiem bądź to bezpośredniego jej wpływu na receptory serotoninowe, bądź też zwiększenia poziomu acetylocholinę w okolicy receptora. Ten ostatni efekt może być spowodowany uwolnieniem przez 5-HT wolnej acetylocholinę lub też podwyższeniem jej poziomu przez zahamowanie esterazy acetylocholinowej. Związki pobudzające układ cholinergiczny podane dokomorowo wywierają podobne działanie do dużych dawek 5-HT. Efekty te w głównej mierze są wynikiem ich bezpośredniego wpływu na ośrodkowe receptory muskarynowe, co zostało wykazane przez Kleinroka i wsp. (10, 11).

Leki antycholinergiczne zwiększają aktywność neuronów dopaminowych poprzez osłabienie przewodnictwa w neuronach cholinergicznych, które aktywują drogi dopaminergiczne. Efektem tego jest nasilenie stereotypii amfetaminowej, opisane również przez Żebrowską i wsp. (24). Obserwowany w naszych doświadczeniach wzrost poziomu DA po podaniu Sk może wynikać zarówno ze zwiększonego obrotu DA, jak ze zmniejszenia aktywności MAO przez Sk. Działanie 5-HT samej na aktywność MAO jak również u zwierząt po Sk jest trudne do wyjaśnienia i wymaga dalszych badań.

Uzyskane wyniki wykazały, że ośrodkowe efekty obserwowane po i.v.c. podaniu 5-HT częściowo znoszone są przez wcześniejsze podanie At lub Sk. Dane te sugerują możliwość istnienia neuronalnych połączeń serotonergiczo-cholinergiczych, a przez to możliwość pośredniego pobudzenia receptorów muskarynowych przez 5-HT.

PIŚMIENNICTWO

1. Aprison M. H.: *Federation Proc* **19**, 275—277, 1960.
2. Brodie B. B., Shore P. A.: *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **66**, 631—642, 1957.
3. Brody J. F.: *Psychopharmacologia (Berl.)* **17**, 14—33, 1970.
4. Chang C. C.: *Int. J. Neuropharmac.* **3**, 643—649, 1964.
5. Day M., Vane J. R.: *Brit. J. Pharmacol.* **20**, 150—170, 1963.
6. Fontanay M., Le Cornec J., Zaczynska M., Debarle M. C., Simon P., Boissier J. R.: *J. Pharmacol. (Paris)* **1**, 243—254, 1970.
7. Gaddum J. H., Picarelli Z. P.: *Brit. J. Pharmacol.* **12**, 323—328, 1957.
8. Herman Z. S.: *Psychopharmacologia (Berl.)* **16**, 369—374, 1970.
9. Kleinrok Z., Jagiełło-Wójtowicz E.: *Annales UMCS, sectio D* **31**, 1976.
10. Kleinrok Z., Wielosz M., Poddubiuk Z.: *Arch. Immunol. et Ther. Exp.* **23**, 465—475, 1975.

11. Kleinrok Z., Wielosz M., Przegaliński E.: Arch. Immunol. et Ther. Exp., 23, 477—484, 1975.
12. Kleinzeller A., Malk J., Laungnnor S., Korac S., Cerkssov J., Chaloupka J., Kotyk A., Burger M.: Manometrische Methoden und ihre Anwendung in Biologie und Biochemie, VEB, Gustaw Fischer Verlag, 418, 1965.
13. Marazzi A. S., Hart E. R.: Science 121, 365—366, 1955.
14. Modigh K., Svensson T. H.: Br. J. Pharmac. 46, 32—45, 1972.
15. Randrup A., Munkwad I.: Psychopharmacologia (Berl.) 11, 300—310, 1967.
16. Swinyard E. A., Brown W. C., Goodman L. S.: J. Pharmacol. Exp. Ther. 106, 319—330, 1952.
17. Tagliamonte A., Tagliamonte P., Gessa G. J.: Nature 230, 244—245, 1971.
18. Tangri K. K., Bhargawa A. K., Bhargawa K. P.: Neuropharmacol. 18, 333—346, 1974.
19. Tenen S.: Psychopharmacologia (Berl.) 10, 204—219, 1967.
20. Waldeck B.: Psychopharmacologia (Berl.) 36, 209—220, 1974.
21. Welch A. S., Welch B. L.: Biochem. Pharmacol. 17, 699—708, 1968.
22. Woolley D. W.: The Biochemical Bases of Psychoses, Wiley, New York, 1962.
23. Zetler G.: Neuropharmacol. 10, 289—296, 1971.
24. Żebrowska-Łupina I., Kleinrok Z., Poddubiuk Z.: Arch. Immunol. et Ther. Exp. 23, 485—495, 1975.
25. Żebrowska-Łupina I., Malec D., Kleinrok Z.: Acta Physiol. Pol. 26, 261—274, 1975.

Otrzymano 16 IV 1976.

РЕЗЮМЕ

Доказано, что 5-гидрокситриптамиин (5-ГТ) в дозе 250 мг, применяемый в латеральный желудочек мозга крыс, уменьшает спонтанную и эксплораторную подвижность, понижает температуру тела и тормозит моторную гиперактивность, вызванную амфетамином. Атропин (10 и 100 мг) и скополамин (10 и 100 мг), применяемые этим же путём, повышают спонтанную подвижность, а атропин обладает гипертермическим действием. Тормозящее действие 5-ГТ спонтанную подвижность, эксплораторную подвижность и температуру тела уменьшается после предварительного применения 5-ГТ с атропином или скополамином.

5-ГТ или скополамин, применяемые отдельно, не влияют на уровень норадреналина и дофамина в мозгу крыс. 5-ГТ, применяемый после скополамина, не влияет на уровень норадреналина, и понижает уровень дофамина.

Полученные результаты доказывают, что большие дозы 5-ГТ обладают влиянием тоже на центральные холинергические структуры.

SUMMARY

It has been shown that 5-HT in dose 250 µg injected intraventricularly into rats decreases the locomotor and exploratory activity, lowers the body temperature and inhibits amphetamine induced hypermotility. Atropine (10 and 100 µg) and scopolamine (10 and 100 µg) administered by the same route increases the locomotor activity, and atropine induces a hyperthermic effect.

The inhibitory effects of 5-HT on the locomotor activity, exploratory activity and the body temperature were reduced by pretreatment with atropine or scopolamine.

5-HT or scopolamine injected separately does not change the level of either noradrenaline or dopamine in the whole rat brain. 5-HT injected with scopolamine does not change the level of noradrenaline but decreases the level of dopamine.

The obtained results indicate that the great doses of 5-HT also exert an influence on the central cholinergic structures.