

Katedra i Zakład Fizjologii Człowieka Akademii Medycznej w Lublinie
Kierownik: prof. dr hab. Władysław Stażka

Władysław STAŻKA, Róża CZABAK,
Joanna KĄDZIOŁKA, Wiesław PAWLUCZUK

Wpływ podania apomorfiny do komór mózgu na efekty depresyjne nerwu błędnego

Влияние внутримозгового введения апоморфина на депрессивные эффекты
блуждающего нерва

Effect of Intracerebroventricular Injection of Apomorphine on the Depressor Responses
of Vagus Nerve

Stworzony w ostatnich latach model ośrodkowej regulacji krążenia zakłada istnienie neuronów regulujących na różnych poziomach mózgowych. Neurony te zorganizowane są w sposób podłużny. Struktury wyższe poprzez połączenia zstępujące mogą modulować zarówno funkcje krążeniowe związane z ośrodkami rdzenia przedłużonego, jak i czynność współczulnych neuronów rdzenia kręgowego. U zwierząt z nadciśnieniem tętniczym stwierdzono w kilku nadrdzeniowych regionach regulujących, między innymi w regionie A_2 , znacznie podwyższony poziom dopaminy bądź większą populację receptorów dopaminergicznych przy nie zmienionej produkcji dopaminy (11). Sugerowałoby to, iż dopamina może powodować wzrost ciśnienia krwi. Potwierdziły tę sugestię badania, w których podawano dokomorowo dopaminę i uzyskiwano znaczny wzrost ciśnienia krwi (10). Nie wyjaśniły one jednak mechanizmu działania dopaminy w ośrodkowej regulacji ciśnienia krwi. Część autorów uważa, że jest on związany ze stymulacją receptorów dopaminergicznych (11), inni zaś twierdzą, że dopamina działa poprzez blokadę jąder nerwu błędnego (6). Jeżeli ostatnie założenie byłoby słuszne, to podanie dopaminy lub jej agonisty w okolice jąder n. błędnego powinno powodować zahamowanie bądź znaczne obniżenie efektów depresyjnych tego nerwu. Działanie n. błędnego obniżające ciśnienie krwi znane jest od dawna. Nerw błędny bierze udział w regulacji ciśnienia krwi między innymi poprzez swoje aferentne czuciowe włókna sercowo-naczyniowe (13), których pobudzenie powoduje znaczny spadek ciśnienia krwi w wyniku zahamowania adrenergicznych włókien naczyniozwiększających, biegnących do naczyń objętościowych i oporowych oraz w następstwie spadku napięcia mięśniówki naczyń (3). Wielkość spadku ciśnienia zależna jest od częstotliwości i siły bodźca działającego na aferenty n. błędnego.

W związku z tymi danymi piśmiennictwa postanowiliśmy zbadać efekty depresyjne n. błędnego związane z drażnieniem jego aferentów przed i po podaniu apomorfiny, która uważana jest za specyficzny stymulator receptorów dopaminergicznych (15). Substancja ta naśladuje w ośrodkowym układzie

nerwowym depolaryzacyjną odpowiedź na dopaminę (12). Postanowiliśmy podawać apomorfinę do jednej z komór bocznych mózgu, skąd dyfundowałaby drogą naturalnych połączeń poprzez komorę trzecią i wodociąg mózgu do komory czwartej, na której dnie znajdują się jądra nerwów językowo-gardłowego i błędnego. W ten sposób uzyskalibyśmy bezpośredni kontakt apomorfiny z jądrami n. błędnego i moglibyśmy sprawdzić, czy rzeczywiście są one blokowane. Jeżeli tak było, to przy stymulacji aferentów n. X nie powinniśmy uzyskać efektów depresyjnych wcale bądź powinny być one znacznie mniejsze.

MATERIAŁ I METODYKA

Badania przeprowadzono na 40 królikach obu płci, mieszańcach o m.c. 3,300–5,450 kg, w narkozie uretanowej (1,5 g/kg 20% roztworu 0,9% chlorku sodu). W czasie w prawej kości ciemieniowej wykonano otwór. Zabezpieczano go kawałkami spongostanu w celu zapobieżenia wykrwawienia się królika. Następnie przecinano skórę i tkankę podskórną w linii pośrodkowej ciała od poziomu kąta żuchwy do górnego brzegu mostka. Po odsłonięciu tchawicy przecinano ją na wysokości gruczołu tarczowego i wprowadzano do niej rurkę tracheotomijną. Lewy n. błędny wypreparowywano, podwiązywano i przecinano na wysokości pierwszego kręgu piersiowego. Pod częścią dośrodkową nerwu umieszczano elektrody srebrne pokryte chlorkiem srebra i połączone ze stymulatorem prądów prostokątnych. Kolejno wypreparowywano tętnicę szyjną wspólną prawą, przecinano ją, część obwodową przewiązywano, a w części dośrodkowej umieszczano wypełnioną solą fizjologiczną z heparyną kaniulę połączoną z manometrem rtęciowym Ludwiga. W celu zapobieżenia wysychaniu nerwów i tętnic zanurzano je w ciepłym oleju parafinowym. Temperaturę zwierzęcia i oleju utrzymywano na stałym poziomie $210 \pm 1^\circ\text{K}$.

W godzinę po zakończeniu zabiegów rozpoczynano doświadczenie. Na kimografie wolno-obrotowym rejestrowano zmiany ciśnienia wywołane drażnieniem dośrodkowego odcinka n. błędnego. Stosowano impulsy prostokątne o szerokości 5 msec. i częstotliwości 5 Hz w czasie 20 sek. Dla każdego zwierzęcia indywidualnie poszukiwano bodźca progowego — najmniejszego napięcia prądu, przy którym występowała zmiana ciśnienia, po czym nerw drażniono bodźcami o sile krotności bodźca progowego 1–10 T w odstępach co 3 min., w przypadkowej kolejności, np.: 2 T, 5 T, 3 T itd. W celu uzyskania wiarygodnych danych kilkakrotnie powtarzano drażnienie tymi samymi bodźcami. Po zakończeniu cyklu drażeń do komory bocznej prawej podawano znakowany błękitem metylenowym roztwór apomorfiny w 50 ml fizjologicznego roztworu chlorku sodowego, apomorfiny w ilości 20 $\mu\text{g}/\text{kg}$ c.c. królika. Po godzinie od podania apomorfiny dokonywano kolejnych zapisów zmian ciśnienia, przy czym nie poszukiwano już bodźca progowego, lecz stosowano bodźce o identycznych wartościach jak przed podaniem apomorfiny. Po zakończeniu doświadczenia króliki zabijano i sprawdzano sekcyjnie, czy rzeczywiście apomorfina dostała się do komory bocznej. Jako udane traktowane były tylko te próby, w których znajdowano zabarwiony błękitem metylenowym płyn w komórce bocznej, a tkanka mózgowa była nie zabarwiona. Obliczono odchylenia standardowe i test istotności metodą zmiennej losowej *t* Studenta.

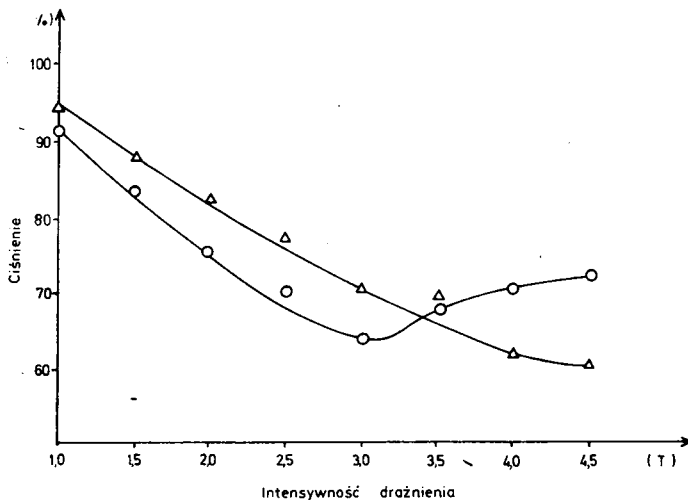
WYNIKI BADAŃ

W badaniach nie stwierdzono korelacji między wartością bodźca progowego T a masą i płcią zwierzęcia. Średnia wartości T wynosiła 1,39 V. U 40% zwierząt $T = 1$ V, u 20% $T = 2$ V, u 15% $T = 3$ V, u 15% $T = 4$ V, a u 10% T nie przekraczało 1 V.

Przed podaniem apomorfiny drażnienie prądem o określonych w metodyce parametrach powodowało zawsze efekt depresyjny, jedynie u 3 królików drażnienie bodźcem o wartości 2,5, 3,0 i 3,5 T wywoływało reakcję dwufazową, po okresie głębokiej depresji występował niewielki, o wartości 0,5% w stosunku do ciśnienia spoczynkowego, efekt presyjny.

W trakcie doświadczeń zauważono, że wraz ze wzrostem siły bodźca wzrastał efekt depresyjny. Największy spadek ciśnienia uzyskano podczas stosowania bodźców o sile 3–5 T. Przy użyciu bodźców przekraczających 5 T u 40% królików wystąpiła depresja mniejsza niż przy drażnieniu bodźcem progowym, u 30% brak było jakiegokolwiek reakcji, a u pozostałych 30% reakcja wystąpiła, ale brak było zależności pomiędzy siłą bodźca a uzyskanym efektem, poza tym kilkakrotne działanie identycznym bodźcem dawało krańcowo różne efekty.

Działając bodźcem o sile w granicach 1–5 T wykazano zależność między krotnością stosowanego bodźca a wartością uzyskanego efektu depresyjnego (tab. 1 i ryc. 1).



Ryc. 1. Spadek ciśnienia krwi w zależności od siły bodźca; 1 — przed podaniem apomorfiny, 2 — po podaniu apomorfiny

Blood pressure decrease 1 — before and 2 — after injection of apomorphine in the relation to the strength of stimulus

Dokomorowe podanie apomorfiny w większości przypadków nie wpływało na wartość ciśnienia spoczynkowego, u 25% zwierząt dochodziło do spadku ciśnienia o 6,5–13%, u 10% wystąpiło podwyższenie ciśnienia o 6,5%, w pozostałych przypadkach ciśnienie spoczynkowe nie ulegało zmianie.

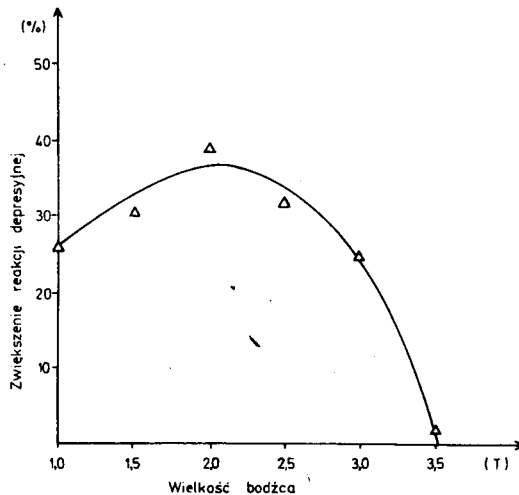
Podobnie jak przed podaniem apomorfiny, większość zwierząt reagowała spadkiem ciśnienia krwi na wszystkie stosowane przez nas bodźce. Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono, że po podaniu apomorfiny stosowanie

Tab. 1. Spadek ciśnienia tętniczego przy drażnieniu dogłowego odcinka nerwu błędnego przed i po podaniu dokomorowym apomorfiny oraz różnica obu tych reakcji depresyjnych wyrażona w procentach
 Blood pressure decrease following stimulation of the central end of vagus nerve before and after intracerebroventricular injection of apomorphine and differences between these reactions given in per cent

Sila bodźca (F)	1,0	1,5	2,0	2,5	3,0	3,5	4,0	4,5
Wielkość reakcji depresyjnej przed podaniem apomorfiny	7,1 ± 0,8	12,6 ± 1,3	17,8 ± 2,1	22,6 ± 1,2	29,3 ± 3,8	31,5 ± 1,9	38,5 ± 2,4	39,3 ± 1,9
Wielkość reakcji depresyjnej po podaniu apomorfiny	8,9 ± 0,6	16,4 ± 0,8	24,7 ± 3,1	29,8 ± 2,1	36,4 ± 3,6	31,9 ± 0,9	30,1 ± 1,9	28,8 ± 1,3
Różnica reakcji depresyjnej przed i po podaniu apomorfiny	25,4	30,2	38,8	31,9	24,2	1,3	21,9*	27,9*

* Procentowe zmniejszenie reakcji depresyjnej po podaniu apomorfiny.

* Per cent decrease of depressor response after injection of apomorphine.



Ryc. 2. Zwiększenie efektu depresyjnego po podaniu apomorfiny w zakresie bodźców o sile 1,0–3,5 T, wyrażone w wartościach względnych w stosunku do analogicznego efektu przed podaniem apomorfiny

Enhancement of depressor effect after injection of apomorphine in the range of the strength of stimulus 1.0–3.5 T in per cent in relation to this effect before apomorphine

bodźców o wartościach 1–3,5 T pogłębiała jeszcze bardziej reakcję depresyjną, przy czym dała się zauważyć zależność reakcji od wielkości bodźca. Natomiast drażnienie bodźcami o większej sile powodowało już osłabienie efektów depresyjnych uzyskanych przy zastosowaniu tych samych bodźców jak przed podaniem apomorfiny, a mianowicie — drażniąc bodźcem 4 T efekt depresyjny po podaniu apomorfiny był mniejszy o 21,9% od depresji wywołanej identycznym bodźcem przed podaniem apomorfiny. Bodziec 4,5 T powodował reakcję mniejszą o 27,9% (tab. 1, ryc. 1 i 2).

U 20% królików drażnienie bodźcami o sile 2,0, 2,5 i 3,0 T powodowało natomiast efekt presyjny (wprawdzie nieznaczny), którego wielkość zależna była od siły bodźca, mianowicie bodziec o wartości 2 T powodował wzrost ciśnienia tętniczego o 7,5%, 2,5 T — o 18,9%, 3 T — o 18%.

Stosując bodźce 5–10 T w 40% nie obserwowano jakiegokolwiek efektu, a w 60% reakcja wystąpiła, ale nie zauważono związku pomiędzy siłą bodźca a uzyskanym efektem.

Przy $v = 38$ stopni swobody i ryzyku błędu 5% wartość graniczna odczytana z tablic t Studenta wynosi $t_{0,05} = 2,024$. Wartość ta przewyższana jest przez t_0 dla 2,0, 2,5, 3,0 i 3,5 T. Obliczenia statystyczne wykazały, że istnieje wyraźna różnica w wysokości spadku ciśnienia tętniczego krwi przy drażnieniu aferentów n. błędnego w zależności od podania bądź też niepodania apomorfiny w przedziale bodźców 2,0–3,5 T, gdyż przy $v = 2,0, 2,5, 3,0$ i 3,5 T, a więc dla tych

wartości bodźca drażniącego otrzymane przez nas wyniki są istotne. Dla pozostałych wartości bodźców otrzymane wyniki nie spełniły testu istotności.

Dokonano również analizy czasu trwania zmian ciśnienia pod wpływem drażnienia aferentów n. błędnego przed i po podaniu apomorfiny. Średnio czas trwania zmiany ciśnienia wynosił 45 ± 15 sek. Na podstawie uzyskanych wyników nie zauważono ani zależności pomiędzy bodźcem a czasem trwania reakcji, ani wpływu apomorfiny na czas trwania zmiany ciśnienia.

OMÓWIENIE WYNIKÓW

Większość autorów uważa, że apomorfiną wpływa na ciśnienie krwi działając na receptory dopaminergiczne. Pobudzenie tych receptorów (np. przez dopaminę) powoduje wzrost ciśnienia krwi. W naszych badaniach dokomorowe podanie apomorfiny w dawce $20 \mu\text{g}/\text{kg}$ c.c. nie wywołało jednoimiennej reakcji ciśnieniowej. Obserwowaliśmy zarówno wzrost, spadek, jak i utrzymywanie się ciśnienia na stałym poziomie. Na tej podstawie wnioskujemy, że apomorfiną zadziałała na receptory dopaminergiczne nie tylko stymulująco, ale również hamująco, tzn. zachowała się nie tylko jako agonista, ale również jako antagonist dopaminy. Jest to zgodne z ostatnimi doniesieniami, w których stwierdzono, że istotnie dla receptorów D_1 , związanych z cyklazą adenylową, apomorfiną jest agonistą bądź antagonistą w zależności od dawki, natomiast dla receptorów D_2 jest wyłącznie agonistą (9).

Drażnienie elektryczne aferentów n. błędnego, naśladujące fizjologiczne przekazywanie bodźców z baroreceptorów aorty, mechanoreceptorów obszaru sercowo-płucnego czy receptorów objętościowych serca, powoduje głównie odpowiedź depresyjną ze znacznym spadkiem ciśnienia krwi. W ten łuk odruchowy włączone są jądra n. błędnego. Niektórzy autorzy (6) sugerują, że są one blokowane przez dopaminę, a więc, być może, również przez apomorfinę jako stymulatora receptorów dopaminergicznych.

Tymczasem w naszych badaniach nie tylko nie obserwowaliśmy zahamowania lub zmniejszenia efektów depresyjnych przy drażnieniu aferentów n. błędnego, lecz wręcz przeciwnie — nasilenie ich w przedziale bodźców 1,0–3,5 T. Pogłębienie reakcji było największe przy bodźcach o sile 2,0 T (większe o 38,8% w stosunku do depresji przed podaniem apomorfiny) — ryc. 2. Dopiero w zakresie bodźców powyżej 3,5–4,5 T wystąpiło zmniejszenie efektu depresyjnego, jednakowoż tendencja spadkowa ciśnienia utrzymywała się nadal.

Na tej podstawie sądzić można, że podanie apomorfiny nie powoduje efektu blokowania jąder n. błędnego, lecz wręcz przeciwnie — w zakresie bodźców 1,0–3,5 T nasila reakcję. Występuje więc po apomorfynie obniżenie progu pobudliwości w odruchach depresyjnych. Być może, też w zakresie tych bodźców przeważa efekt drażnienia najbardziej pobudliwych włókien nerwowych afe-

rentnych wchodzących w skład n. błędnego, a zmniejszenie efektu ujawnia się dopiero przy bodźcach silniejszych.

Również pewną rolę odgrywać może wielkość stosowanej dawki apomorfiny. Zagadnienie to pozostaje nadal nie rozstrzygnięte i będzie tematem dalszych naszych badań.

Wnioski

1. Bodziec progowy dla aferentów n. błędnego królika przy drażnieniu prądem o częstotliwości 5 Hz i szerokości impulsu 5 msec. przyjmuje najczęściej wartości 0,5–2 V i nie zależy od masy i płci zwierzęcia.

2. Wzrost siły bodźca działającego na aferenty n. błędnego powoduje wzrost odpowiedzi depresyjnej.

3. Bodziec maksymalny jest 5-krotnie większy od bodźca progowego.

4. Dokomorowe podanie apomorfiny powoduje zarówno spadek, wzrost, jak i utrzymanie ciśnienia na stałym poziomie.

5. Apomorfiną podaną dokomorowo zwiększa efekty depresyjne aferentów n. błędnego w zakresie bodźców o sile 1,0–3,5 T, natomiast nieco osłabia je przy bodźcach powyżej 3,5 T.

PIŚMIENNICTWO

1. Altura B. M. i wsp.: Biphasic Responsiveness of Rat Pial Arterioles to Dopamine: Direct Observations on the Microcirculation. *Brit. J. Pharmacol.* **69**, 543, 1980.
2. Axelrod J.: Catecholaminergic Systems in the Brain. *Acta Neurol. Scand. suppl.* **56/64**, 85, 1977.
3. Chen D. S. i wsp.: Role of Vagal Afferents in Vasodepressor Effects of PGE₂ in Spontaneously Hypertensive Rats. *Am. J. Physiol.* **236**, 635, 1979.
4. Evans J., Murray R. W.: Histological and Function Studies of the Fibre Composition of the Vagus Nerve of the Rabbit. *J. Anat.* **88**, 320, 1954.
5. Feldberg W., Shaligram S. V.: The Hyperglycaemic Effect of Morphine. *Brit. J. Pharmacol.* **46**, 602, 1972.
6. Granata A. R., Woodruff G. N.: The effects of Dopamine on Neurones in the Nucleus Tractus Solitarii and on Central Control of Blood Pressure in the Rat. *J. Physiol.* **256**, 100P, 1979.
7. Holland F. J. i wsp.: The Role of Biogenic Amines in the Regulation of Growth Hormone and Corticotropin Secretion in the Trained Conscious Dog. *Endocrinology* **102**, 1452, 1978.
8. Izdebska E., Trzebski A.: Role of the Adrenergic Receptors in the Central Mechanism of the Cardiovascular Component of the Arterial Baroreceptor Reflex. *Acta Physiol. Pol.* **31**, 475, 1980.
9. Kebebian J. W., Zatz M.: Adaptive Properties of Adrenoceptors. *Cell Surf. Neuron Funct.* **6**, 325, 1980.
10. Lang W. J., Woodman O. L.: Cardiovascular Responses Produced by the Injection of Dopamine into the Cerebral Ventricles of the Unanaesthetized Dog. *Brit. J. Pharmacol.* **66**, 235, 1979.

11. Le Fur C. i wsp.: Central Dopaminergic Neurons during Development of Genetic and DOCA — Salt Hypertension in the Rat. *Brain Res.* **227**, 153, 1981.
12. McDonald J. F.: Pharmacology of Dopamine Receptors in the Central Nervous System of *Plumbis corneus*. *J. Physiol.* **263**, 205, 1977.
13. Paintal A. S.: Vagal Afferent Fibres. *Ergebn. Physiol.* **52**, 74, 1963.
14. Saaredra J. M.: Adrenaline Levels in Brain Stem Nuclei and Effects of a PNMT Inhibitor of Spontaneously Hypertensive Rats. *Brain Res.* **166**, 283, 1979.
15. Teasdale G., McCulloch J.: Effect of Stimulation Dopaminergic Receptors Upon Local Cerebral Blood Flow. *Acta Neurol. Scand.* **64**, 56, 1977.
16. Ungstedt U.: The Role of Dopamine as a Neurotransmitter in the Central and Autonomic Nervous System. *Acta Endocr. Suppl.* **2**, 13, 1978.

РЕЗЮМЕ

В работе на кроликах в уретановом наркозе (м.т. = 3–4 кг) изучался эффект влияния электростимуляции центрального конца левого блуждающего нерва (ЭСБН) и введения апоморфина в боковой желудочек мозга в дозе 20 мг/кг на артериальное давление крови (АД). Сначала проводились поиски порогового стимула, потом применялась его многократность на ЭСБН. Все время регистрировалось АД. Всегда наблюдалось понижение АД, зависимое от величины ЭСБН. Потом был введен в боковой желудочек мозга апоморфин и раздражен блуждающий нерв теми же стимулами как прежде. Установлено, что для стимулов 1–3,5 Т был четко выражен эффект понижения АД, больше чем перед введением апоморфина. Введение апоморфина без ЭСБН не изменяло АД. Этот эффект может свидетельствовать о том, что апоморфин не вызывает блокаду блуждающего нерва, но имеет обратное влияние при стимулах 1–3,5 Т.

SUMMARY

The effects of intracerebroventricular injection of apomorphine and electrical stimulation of the central end of the left vagus nerve on blood pressure were investigated in anaesthetized rabbits. In experiments, at first the threshold stimulus (T) was estimated and then its multiplicity was used. Usual blood pressure depressor response was observed. Apomorphine in a dose of 20 mg/kg was administered into the lateral ventricle and the same parameters of stimulation as before were used. The results indicate that apomorphine does not change the blood pressure level. Stimulation of vagus afferents in a range of 1–3.5 T after administration of apomorphine results in a much deeper depressor response than before. These findings may suggest that apomorphine does not block vagal nuclei but has rather opposite effect facilitating depressor response in the range of 1–3.5 T.