ANNALES
UNIVERSITATIS MARIAE CURIE-SKŁODOWSKA
LUBLIN — POLONIA
VOL. XXXII, 20 SECTIO D 1977

Zakład Farmakodynamiki. Instytut Patologii Klinicznej. Wydział Lekarski.
Akademia Medyczna w Lublinie
Kierownik: doc. dr hab. Romuald Langwiński

Alicja KRUSZEWSKA

Ośrodkowe działanie normetanefryny. Interakcja normetanefryny ze związkami wpływającymi na ośrodkowy układ nerwowy

Центральное действие норметанофрина. Интеракция норметанефрина с соединениями, влияющими на центральную нервную систему

The Central Effects of Normetanephrine. The Interaction of Normetanephrine with Compounds Affecting the Central Nervous System

W poprzedniej pracy (12) wykazano, że normetanefryna (NM) w zależności od zastosowanej dawki wywiera na ośrodkowy układ nerwowy szczurów dwukierunkowe działanie, mianowicie w małych dawkach działa słabo pobudzająco, natomiast w dużych hamująco. Ośrodkowe działanie NM jest zbliżone do ośrodkowego działania noradrenaliny (NA), jednak jest to działanie znacznie słabsze. Garattini i wsp. (8) stwierdzili, że NM podobnie jak NA znosi u myszy ptozę wywołaną rezerpiną. Zniesienie ptozy w przypadku NA trwało 90—180 min., a w przypadku NM 90 min. Baq i Renson (2) badali wpływ NA i adrenaliny na migotkę kota po uprzednim zastosowaniu NM i metanefryny. Wykazali oni, że NM i metanefryna zwiększają wrażliwość adrenergicznego receptora alfa na NA i adrenalinę. To zwiększenie wrażliwości receptora ma inny charakter niż obserwowane po podaniu inhibitorów COMT. Autorzy ci sugerują ponadto, że NM może wiązać się z MAO.

Ze względu na skąpe i fragmentaryczne doniesienia z piśmiennictwa co do mechanizmu działania NM na ośrodkowy układ nerwowy zwierząt doświadczalnych celem naszej pracy była próba wyjaśnienia mechanizmu ośrodkowego działania NM.

MATERIAŁ I METODY

Doświadczenia przeprowadzono na białych szczurach szczepu Wistar, obu płci, o ciężarze ciała 120—160 g. Chlorowodorek Dl-normetanefryny podawano w 0,9% roztworze chlorku sodu do prawej bocznej komory mózgu. Wstrzyknięć dokonywano posługując się metodą opisaną przez Hermana (9). Uzyskane wyniki opracowano statystycznie przy pomocy t-testu Studenta (14).

Wpływ NM na stereotypię amfetaminową. Po podaniu (±) amfetaminy w dawkach 5 i 10 mg/kg i.p. zwierzęta umieszczano w drucianych klatkach o wymiarach 21×21×25 cm, 30 min. po podaniu NM (12,5 i 400 μg) i.v.c. oceniano stereotypię za pomocą 4-stopniowej skali opisanej przez Janssena i wsp. (10) oraz Del Rio Fuents (7). Stereotypię oceniano w odpowiednich odstępach czasu, łącznie przez 6 godz. od momentu podania NM. Grupy liczyły po 6 szczurów.

Wpływ NM na ruchliwość szczurów pobudzanych amfetaminą. Badano wpływ NM na ruchliwość szczurów, którym 30 min. wcześniej wstrzykiwano siarczan (±) amfetaminy w dawce 3 mg/kg i.p. Następnie 15 min. po podaniu NM mierzono ruchliwość szczurów metodą fotoopornikową przez okres 30 min. Liczba zwierząt w grupie wynosiła 8—10. NM stosowano w dawkach 12,5 i 400 μg.

Wpływ NM na ruchliwość szczurów poddanych działaniu kofeiny. Badano wpływ NM na ruchliwość szczurów, którym wstrzykiwano kofeino-benzoesan sodowy w dawce 20 mg/kg i.p. 15 min. przed podaniem NM. Następnie 15 min. po podaniu NM mierzono ruchliwość metodą fotoopornikową przez okres 30 min. Liczba zwierząt w grupie wynosiła 7—8. NM stosowano w dawkach 12,5 i 400 μg.

Wpływ NM na ruchliwość szczurów poddanych działaniu nialamidu. Posługując się metodą fotoopornikową badano wpływ NM na ruchliwość szczurów poddanych działaniu nialamidu, który stosowano w dawce 100 mg/ /kg dootrzewnowo 16 godz. przed testem. NM podawano w dawkach 12,5 i 400 μg. Ruchliwość mierzono 15 min. po podaniu NM przez okres 30 min. Grupy liczyły po 8 szczurów.

Wpływ NM na ciepłotę ciała szczurów poddanych działaniu rezerpiny. Poszczególnym grupom (po 10 zwierząt — szczurów) 18 godz. wcześniej podawano rezerpinę 1 mg/kg i.p., a następnie NM w dawkach 12,5 i 400 μg i prowadzono systematyczne pomiary ciepłoty ciała termometrem ternistorowym w odbytnicy.

Wpływ NM na ruchliwość szczurów poddanych działaniu alfa-metyl-p-tyrozyny (alfa MT). Alfa MT stosowano dootrzewnowo w dawce 100 mg/kg dwukrotnie (7 i 3 godz. wcześniej). NM podawano w dawkach 12,5 i 400 μg, 15 min. po podaniu NM mierzono ruchliwość przez okres 30 min. metodą fotoopornikową.

Wpływ NM na ciepłotę ciała szczurów poddanych działaniu alfa MT. Poszczególnym grupom szczurów podawano alfa MT w dawce 100 mg/kg i.p. dwukrotnie (7 i 3 godz. wcześniej). Następnie podawano NM w dawkach 12,5 i 400 μg i przeprowadzano systematyczne pomiary ciepłoty ciała w sposób opisany poprzednio. Grupy liczyły po 10 szczurów.

Wpływ NM na ruchliwość szczurów poddanych działaniu 6-hydroksydopaminy. 6-Hydroksydopaminę podawano dokomorowo w dawce 2×200 μg do obydwu komór mózgu. Po 14 dniach stosowano NM w dawkach 12,5 i 400 μg. 15 min. po podaniu NM mierzono ruchliwość przez okres 30 i 60 min. metodą fotoopornikową.

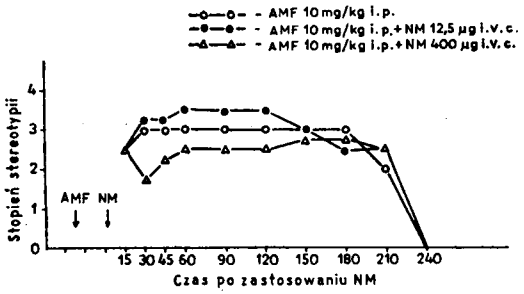
Wpływ NM na ruchliwość szczurów poddanych działaniu fentolaminy. Badano wpływ podanej dokomorowo w dawkach 20 i 100 μg fentolaminy na działanie NM w dawkach 12,5 i 400 μg. Doświadczenia wykonano na szczurach (grupy po 8 zwierząt). Fentolaminę stosowano 15 min. przed podaniem NM, po czym 15 min. po zastosowaniu NM zwierzęta umieszczano w urządzeniach do pomiaru ruchliwości. Ruchliwość mierzono przez okres 30 min.

Wpływ NM na ruchliwość szczurów poddanych działaniu propranololu. Badano wpływ dokomorowo podanego propranololu w dawce 150 μg/szczura na działanie NM w dawkach 12,5 i 400 μg/szczura. Doświadczenia wykonano na grupach po 8 zwierząt. Propranolol stosowano 15 min. przed podaniem NM, następnie 5 min. po zastosowaniu NM zwierzęta umieszczano w klatkach do pomiaru ruchliwości. Ruchliwość mierzono przez okres 30 min.

Wpływ NM na zawartość noradrenaliny (NA) i dopaminy (DA) w mózgu. Oznaczenie zawartości NA i DA przeprowadzono w grupach po 10 zwierząt — szczurów. Zwierzęta zabijano przez dyslokację rdzenia kręgowego 15 min. po dokomorowym podaniu NM w dawkach 12,5 i 400 μg. Następnie możliwie szybko wypreparowywano mózgi szczurów, ważono je i homogenizowano. Pozostała procedura była zgodna z metodą opisaną przez Changa (5). Zawartość NA i DA odczytywano przy użyciu spektrofluorymetru Faranda.

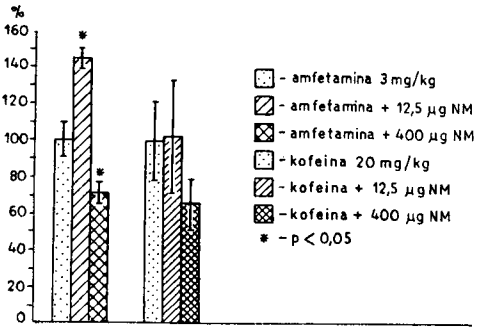
WYNIKI

Stosowanie NM w dawce 12,5 μg nieznacznie zwiększało stopień stereotypii wywołanej amfetaminą w dawce 100 mg/kg. Maksymalne efekty obserwowano między 60 a 120 min. Dawka 400 μg NM zmniejszała stopień stereotypii amfetaminowej, w 30—45 min. od podania NM stwierdzono maksymalne efekty zmniejszenia stereotypii. NM w powyższych dawkach nie wpływała na czas trwania stereotypii (ryc. 1). W przypadku stereotypii wywołanej amfetaminą w dawce 5 mg/kg NM zastosowana w dawce 12,5 μg zwiększała stopień stereotypii oraz skracała czas trwania stereotypii. NM w dawce 400 μg znosiła stereotypię przez okres 5—30 min. od podania i.v.c. W późniejszym czasie zmniejszała stopień stereotypii w stosunku do grupy kontrolnej jak również nieznacznie skracała czas trwania stereotypii.



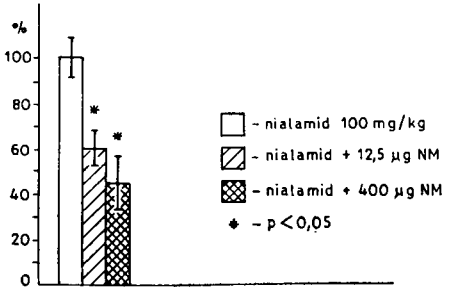
Ryc. 1. Wpływ normetanefryny i.v.c. na stereotypię wywołaną amfetaminą i.p.
Influence of normetanephrine i.v.c on amphetamine stereotypy (i.p.).

Pobudzenie motoryczne wywołane podaniem amfetaminy zwiększone było po zastosowaniu NM w dawce 12,5 μg o około 50%, NM w dawce 400 μg istotnie zmniejszała pobudzenie motoryczne wywołane amfetaminą (ryc. 2). NM w dawce 12,5 μg nie wpływała na ruchliwość szczurów poddanych działaniu kofeiny. Podanie 400 μg NM zmniejszało ruchliwość szczurów pobudzonych kofeiną, jednak wynik był statystycznie nieistotny (ryc. 2). Zastosowanie NM w dawkach 12,5 i 400 μg zmniejszało ruchliwość szczurów poddanych działaniu nialamidu odpowiednio o 40 i 60%



Ryc. 2. Wpływ normetanefryny i.v.c. na ruchliwość szczurów poddanych działaniu amfetaminy i kofeiny i.p.
Influence of normetanephrine i.v.c. on amphetamine and coffeine induced hyperactivity (i.p.).

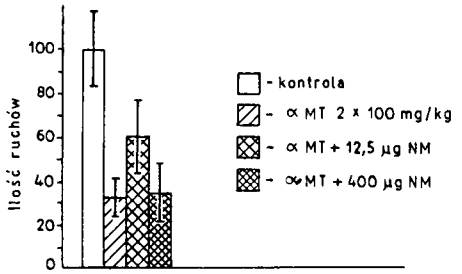
w porównaniu z grupą zwierząt, które otrzymały tylko nialamid i.p. i sól fizjologiczną i.v.c. Uzyskane wyniki były statystycznie istotne (ryc. 3).



Ryc. 3. Wpływ normetanefryny i.v.c. na ruchliwość szczurów poddanych działaniu nialamidu i.p.
Influence of normetanephrine i.v.c. on the locomotor activity of nialamide-pretreated rats (i.p.).

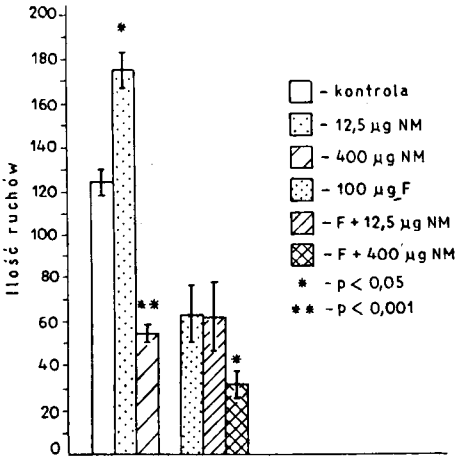
Podanie NM w dawce 12,5 µg tylko nieznacznie antagonizowało hipotermiczne działanie rezerpiny. 400 µg NM powodowało dalsze obniżenie ciepłoty ciała szczurów rezerpinizowanych. Maksymalne obniżenie występowało między 30 a 60 min. i wynosiło 1°C w porównaniu z grupą kontrolną otrzymującą rezerpinę i.p. i sól fizjologiczną i.v.c. Uzyskane wyniki były statystycznie istotne. Obniżenie ciepłoty ciała zwierząt rezerpinizowanych, które otrzymały 400 µg NM, było nieco mniejsze niż po zastosowaniu NM u zwierząt normotermicznych.

Zastosowanie alfa MT powodowało statystycznie istotne zmniejszenie ruchliwości do 32% wartości grupy kontrolnej. Podanie NM w dawce 12,5 µg u szczurów, które uprzednio otrzymały alfa MT, powodowało



Ryc. 4. Wpływ normetanefryny i.v.c. na ruchliwość szczurów poddanych działaniu alfa-MT i.p. (7 i 3 godz. wcześniej)
Influence of normetanephrine i.v.c. on the locomotor activity in alfa-MT-pretreated rat i.p. (7 and 3 h earlier)

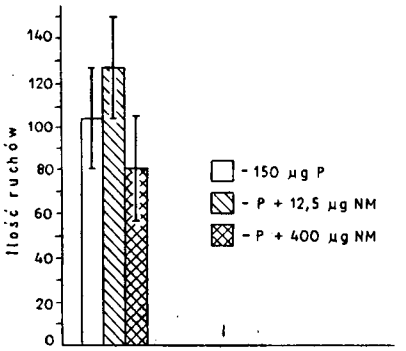
zwiększenie ruchliwości, jednakże stwierdzona w porównaniu z odpowiednią kontrolą (szczury, które otrzymały wyłącznie alfa MT) różnica okazała się statystycznie nieistotna. NM w dawce 400 µg nie wpływała na ruchliwość szczurów poddanych działaniu alfa MT w porównaniu z ruchliwością szczurów, które otrzymały wyłącznie alfa MT (ryc. 4). Zastosowanie samego alfa MT nieznacznie podnosiło ciepłotę ciała szczurów. NM w dawce 12,5 µg nie zmieniała tego hipotermicznego działania alfa MT. 400 µg NM obniżało ciepłotę ciała szczurów poddanych działaniu alfa MT, przy czym obniżenie to wynosiło 1,5°C. Hipotermiczne działanie NM utrzymywało się około 30 min. Statystycznie istotne różnice obserwowano w 5 i 30 min. od podania NM. NM w dawkach 12,5 i 400 µg podana szczurom, które



Ryc. 5. Wpływ normetanefryny i.v.c. na ruchliwość szczurów poddanych działaniu fentolaminy i.v.c.
Influence of normetanephrine i.v.c. on the locomotor activity of phentolamine-pretreated rats (i.v.c.)

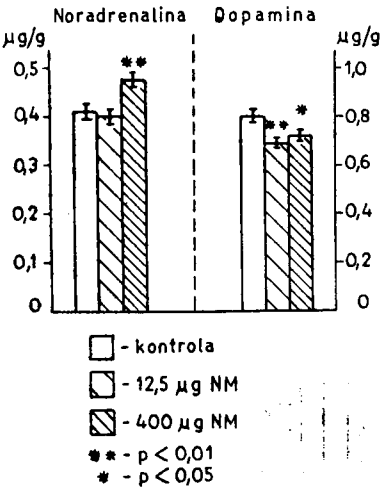
uprzednio otrzymały 6-hydroksydopaminę i.v.c. praktycznie nie wpływała na ich ruchliwość.

Fentolamina zastosowana w dawce 100 μg i.v.c. powodowała statystycznie istotne zmniejszenie ruchliwości. Zastosowanie NM w dawce 12,5 μg u szczurów poddanych działaniu tej dawki fentolaminy nie wpływało na ruchliwość szczurów. Natomiast zastosowanie NM w dawce 400 μg szczurom poddanym działaniu fentolaminy powodowało dalsze zmniejsze-



Ryc. 6. Wpływ normetanefryny i.v.c. na ruchliwość szczurów poddanych działaniu propranololu i.v.c.

Influence of normetanephrine i.v.c. on the locomotor activity of propranolol-pretreated rats (i.v.c.)



Ryc. 7. Wpływ normetanefryny i.v.c. na poziom noradrenaliny i dopaminy w mózgu szczurów

Influence of normetanephrine on the brain level of noradrenaline and dopamine of a rat

nie ich ruchliwości (ryc. 5). Fentolamina podana i.v.c. w dawce 20 μg w zasadzie nie wpływała na ruchliwość szczurów. NM w dawce 12,5 i 400 μg zastosowana szczurom poddanym działaniu tej dawki fentolaminy istotnie zmniejszała ich ruchliwość (ryc. 5).

Propranolol podany i.v.c. w dawce 150 μg zmniejszał wpływ obu dawek NM na ruchliwość szczurów. Warto jednak podkreślić, że po zastosowaniu małej dawki NM obserwowano nieznaczne zwiększenie ruchliwości, a po zastosowaniu dawki większej jej zmniejszenie. Jednakże uzyskane wyniki były statystycznie nieistotne (ryc. 6). NM podana w dawce 25, μg nie wpływała na poziom NM w mózgu. Natomiast zastosowana w dawce 400 μg podnosiła statystycznie istotnie poziom NA. Poziom dopaminy w mózgu po zastosowaniu obu dawek NM ulegał istotnemu obniżeniu (ryc. 7).

DYSKUSJA

Przeprowadzone badania wykazały, że NM w dawce 12,5 μg i.v.c. nasilała stereotypię amfetaminową, a także zwiększała ruchliwość szczurów pobudzonych amfetaminą, nie wpływała na ruchliwość szczurów poddanych działaniu kofeiny. NM w tej dawce zmniejszała ruchliwość szczurów poddanych działaniu nialamidu, nieznacznie antagonizowała hipotermiczne działanie rezerpiny, powodowała nieistotne zwiększenie ruchliwości szczurów poddanych działaniu alfa MT, a nie wpływała na ich ciepłotę ciała. 6-Hydroksydopamina i fentolamina znosiły działanie pobudzające tej dawki na ruchliwość szczurów, natomiast propranolol znacznie osłabiał to działanie. NM w dawce 12,5 μg nie wpływała na poziom NA, a zmniejszała poziom dopaminy w mózgu.

Podanie NM w dawce 400 μg i.v.c. powodowało zmniejszenie stereotypii wywołanej amfetaminą w dawce 10 mg/kg, a zniesienie stereotypii wywołanej amfetaminą w dawce 5 mg/kg, nieistotne zmniejszenie pobudzenia amfetaminowego, nieistotne zmniejszenie ruchliwości szczurów pobudzonych kofeiną, a także ruchliwość szczurów poddanych działaniu nialamidu. 400 μg NM powodowało dalsze obniżenie ciepłoty ciała szczurów rezerpinizowanych jak również obniżenie ciepłoty ciała szczurów poddanych działaniu alfa MT, a nie wpływało na ruchliwość szczurów, którym uprzednio podano alfa MT. 6-Hydroksydopamina znosiła działanie tej dawki NM. Zastosowanie 400 μg NM szczurom poddanym działaniu fentolaminy w dawkach 20 i 100 μg powodowało istotne zmniejszenie ruchliwości. Propranolol znacznie osłabiał działanie NM. Poziom NA w mózgu zwiększał się, a poziom dopaminy był obniżony po podaniu 400 μg NM.

Przeprowadzone badania jeszcze raz potwierdzają wyraźnie ośrodkowe działanie NM. Stosowane w naszej pracy dawki NM 12,5 i 400 μg

po uprzednim podaniu nialamidu wykazały depresyjne działanie na ruchliwość szczurów. Działanie depresyjne małej dawki NM w tym przypadku może być związane ze zwiększeniem się poziomu endogennej NM po zastosowaniu nialamidu (3, 15). Chamberes i Roberts (4) uzyskali nasilenie działania NM po uprzednim zastosowaniu improniazydu, natomiast efektu takiego nie uzyskali w przypadku podania NA. Efekty wywołane przez NM u szczurów poddanych działaniu 6-hydroksydopaminy wskazują na możliwość pośredniego działania NM przez jej wpływ na poziom NA lub dopaminy. Potwierdzeniem tego mobą być wyniki wskazujące na obniżenie poizomu endogennej dopaminy pod wpływem obu stosowanych dawek NM oraz zwiększenie poziomu NA po zastosowaniu większej dawki NM.

Doświadczenia z zastosowaniem alfa MT inhibitora hydroksylazy tyrozynowej wykazały, że działanie NM po zastosowaniu tego związku zmniejszyło się. Dane te również wskazują na fakt, że działanie NM może mieć charakter pośredni. Uzyskane obniżenie poziomu DA po podaniu NM w dawkach 12,5 i 400 μg wskazuje na możliwość uwalniania dopaminy z jej magazynów przez NM. Natomiast podwyższenie poziomu endogennej NA może być wynikiem zwiększonego jej powstawania lub utrudnionego rozpadu. Nie jest wykluczona również możliwość demetylacji NM do NA, co w przypadku metanefryny do adrenaliny *in vitro* wykazali Axelrod i wsp. (1).

Znacznie większy wzrost poziomu endogennej NA uzyskał u myszy Redfern (13) stosując dokomorowo NM po uprzednim zastosowaniu pargyliny. Autor ten sugeruje, że wzrost poziomu NA może być powodowany hamowaniem COMT na skutek nagromadzenia końcowego produktu, a mianowicie NM. Zdaniem tego autora zwiększony poziom NA po zastosowaniu NM można tłumaczyć również hamowaniem „uptake-2" NA przez NM.

Doświadczenia z fentolaminą oraz propranololem wskazują na działanie NM na receptory katecholaminowe. Działanie to jest podobne do działania NA, z tym, że jest ono 2—5-krotnie słabsze. Należy podkreślić, że ośrodkowe działanie NM jest wyraźnie silniejsze od działania obwodowego. Chruściel i wsp. (6) stwierdzili 10—50-krotnie słabsze działanie NM niż NA na obwodzie. Antagonistyczne działanie NA i fentolaminy po ich i.v.c. podaniu na zachowanie się zwierząt wykazali Kleinrok i wsp. (11). Dane te wskazują na udział receptorów katecholaminowych w procesach warunkujących zachowanie się zwierząt. Przyjmując, że NM wywiera działanie ośrodkowe, na podstawie przeprowadzonych doświadczeń można stwierdzić, że działanie to odbywa się poprzez odpowiednie receptory katecholaminowe, a zatem struktury postsynaptyczne. Reasumując należy podkreślić że mechanizm ośrodkowego działania NM

wydaje się być związany z jej wpływem nie tylko na adrenergiczne struktury postsynaptyczne, ale również z jej wpływem na presynaptyczne struktury adrenergiczne.

PIŚMIENNICTWO

1. Axelrod J., Szara S.: Biochim. Biophys. Acta **30**, 188—189, 1958.
2. Baq Z. M., Renson J.: Arch. Int. Pharmacodyn. **130**, 385—402, 1961.
3. Carr L. A., Morre K. E.: Biochem. Pharmacol. **18**, 1907—1918, 1969.
4. Chamberes D. M., Roberts D. J.: Brit. J. Pharmacol. **34**, 223p, 1968.
5. Chang C. C.: Int. J. Neuropharmacol. **3**. 643—649, 1964.
6. Chruściel T., Janiec W., Vasić B.: Arch. Int. Pharmacodyn. **156**, 78—85, 1965.
7. Del Rio J., Fuents J. A.: Europ. J. Pharmacol. **8**, 73—78, 1969.
8. Garattini S., Giachetti A., Pieri L., Re R.: Med. Expl. **3**, 315—320, 1960.
9. Herman Z. S.: Psychopharmacologia **16**, 369—374, 1970.
10. Janssen P. A. J., Niemegeers C. J. E., Schellekens K. H. L., Lenaerts F. M.: Arzneimittel-Forsch. **17**, 841—854, 1967.
11. Kleinrok Z., Żebrowska-Łupina I.: Psychopharmacologia **20**, 348—354, 1971.
12. Kruszewska A.: Acta Physiol. Polon. **26**, 584—590, 1975.
13. Redfern P. H.: Biochem. Pharmacol. **18**, pp. 1780—1782, 1969.
14. Rydygier J.: Pol. Tyg. Lek. **25**, 739—747, 1947.
15. Strada S. J., Sulser F.: Europ. J. Pharmacol. **18**, 303—308, 1972.

Otrzymano 27 I 1976.

РЕЗЮМЕ

В работе установлено, что норметанефрин (НМ) в дозе 12,5 мкг усиливает амфетаминовую стереотипию и увеличивает подвижность крыс, возбужденных амфетамином. Доза НМ 400 мкг уменьшает подвижность крыс, подверженных действию ниаламида. Предварительное применение альфа-метил-паратирозина (α-МТ), пропранола, фентоламина и 6-гидрооксидопамина значительно ослабляет или ликвидирует влияние НМ на подвижность крыс. Предварительное применение α-МТ и резерпина не предотвращает гипотермическое действие НМ в дозе 400 мкг. Было доказано, что НМ в дозе 400 мкг повышает уровень норадреналина в мозгу; уровень допамина в мозгу значительно уменьшается после применения обеих доз НМ.

Механизм центрального действия НМ, по-видимому, связан с его влиянием на пресинаптические и постсинаптические адренергические структуры.

SUMMARY

In the presented paper it has been ascertained, that normatanephrine (NM) administered into the rat's brain ventricle (i.v.c.) in dose of 12,5 μg potentiated amphetamine stereotypy and amphetamine-inducted hyperactivity. NM in dose of 400 μg decreased amphetamine stereotypy and amphetamine induced hyperactivity. The lo-

comotor activity of the nialamide-pretreated rats was decreased by both doses of NM. The effect of NM on locomotor activity was abolished or markedly weakened in rats pretreated with alfa-methyl-p-tyrosine (α-MT), propranolol, phentolamine and 6-hydroksydopamine. The previous administration of α-MT and reserpine did not change hypothermy after 400 μg of NM. It has been found, that NM in dose of 400 μg increased the level of noradrenaline. Both doses of NM decreased the level of dopamine. The mechanism of central effect of NM seems to be related to its effect on presynaptic and postsynaptic adrenergic structures.