

TRASMISSIONE DOPAMINERGICA NELLO STRIATO DI MAMMIFERO: STUDI ELETTROFISIOLOGICI E FARMACOLOGICI *

P. CALABRESI

Clinica Neurologica, Università degli Studi "Tor Vergata", Roma

Riassunto. - *La dopamina inibisce l'attività elettrica delle cellule neostriatali registrate intracellularmente in vitro. Tale azione è mediata da recettori D-1, localizzati post-sinapticamente. Dopo deplezione dopaminergica mediante reserpina, agonisti dopaminergici di tipo D-2, che in condizioni di controllo sono inefficaci, mediano una inibizione presinaptica del rilascio di trasmettitori eccitatori.*

Summary (Dopaminergic transmission in mammalian striatum; electrophysiological and pharmacological studies). - *Dopamine inhibits the firing rate of neostriatal neurons intracellularly recorded in vitro. This inhibitory action is mediated by post-synaptic D-1 receptors. After dopamine depletion by reserpine, D-2 agonists mediate presynaptic inhibition of the release of excitatory transmitters.*

Introduzione

La dopamina (DA), rilasciata dai terminali dei neuroni che originano dalla *substantia nigra*, svolge un ruolo fondamentale nel controllo dell'attività dei neuroni neostriatali ed influenza i segnali che dallo striato sono diretti al resto dei gangli della base [1].

Tale regolazione dopaminergica viene mediata dall'attivazione di due recettori per la DA, i recettori D-1 e i recettori D-2, che modulano la produzione intracellulare di AMPc e la fosforilazione delle proteine [2, 3]. Nel nucleo striato è stata descritta un'azione inibitoria della DA sull'attività elettrica dei neuroni registrati *in vivo* [4]. È noto, inoltre, che la DA, attraverso recettori D-2, riduce il rilascio di neurotrasmettitori di tipo eccitatorio [5].

In questo articolo vengono descritti gli effetti della DA e di agonisti dopaminergici diretti ed indiretti sull'eccitabilità intrinseca e sinaptica delle cellule neostriatali. L'effetto della DA e dei suoi agonisti viene, inoltre,

studiato in ratti trattati con reserpina o con alfa-metilpara-tirosina (AMPT), sostanze che, con differenti meccanismi, depletano lo striato di DA.

Materiali e metodi

La preparazione delle fettine di neostriato, la modalità di applicazione delle sostanze e le tecniche di registrazione intracellulare sono state descritte in precedenza [6]. I ratti pretrattati con reserpina (5 mg/kg) o con AMPT (200 mg/kg) venivano sacrificati rispettivamente dopo 18 e dopo 4 ore dal pretrattamento.

Risultati

Effetto della DA sull'eccitabilità intrinseca di membrana. - La DA (1-10 μ M), applicata nel mezzo di perfusione, produce una riduzione dose-dipendente della frequenza dei potenziali di azione generati da impulsi di corrente depolarizzante. Tale effetto non è associato a cambiamenti di potenziale di membrana o di resistenza, al potenziale di riposo del neurone (-70 ± 5 mV) o a potenziali più iperpolarizzati. Al contrario, quando il neurone viene depolarizzato con corrente positiva, la resistenza, misurata per mezzo di impulsi di corrente della durata di 200-600 ms, viene ridotta dalla applicazione di DA. Questo dato sperimentale indica che l'effetto della DA è voltaggio-dipendente. La tetrodotossina (TTX), noto bloccante del canale del sodio, mima in questi neuroni tale riduzione voltaggio-dipendente di conduttanza. L'effetto della DA non viene bloccato dal cadmio (0,1 mM) nel mezzo di perfusione. Tale risultato suggerisce che l'azione della DA è post-sinaptica.

Effetto della DA sull'eccitabilità sinaptica. - La stimolazione dello striato, in vicinanza dell'elettrodo regi-

* Lavoro presentato al 1° Convegno Nazionale "Giovani Cultori delle Neuroscienze" (Roma, Consiglio Nazionale delle Ricerche, 11-12 dicembre 1987) su invito del Comitato scientifico del convegno.

strante, produce un potenziale post-sinaptico eccitatorio (e.p.s.p.), causato dal rilascio di neurotrasmettitori eccitatori in prossimità della cellula registrata. La DA, alle stesse dosi a cui riduce l'eccitabilità intrinseca di membrana, causa una riduzione della ampiezza e della durata dei potenziali post-sinaptici eccitatori registrati quando il neurone è al potenziale di membrana di riposo; quando la cellula viene iperpolarizzata da corrente negativa oltre i -85 mV, l'effetto della DA sui potenziali sinaptici non viene più osservato. Ciò indica che anche l'effetto della DA sull'eccitabilità sinaptica è voltaggi-dipendente. Bloccanti dei canali del potassio come la 4-aminopiridina (1 mM), il tetraetilammonio (TEA, 20 mM) ed il cesio intracellulare (2 M) non bloccano l'effetto voltaggio-dipendente della DA.

Farmacologia dell'inibizione indotta da DA. - L'azione inibitoria della DA sull'eccitabilità intrinseca e su quella sinaptica viene antagonizzata dalla applicazione di SCH 23390 (0,1-1 μ M), antagonista selettivo dei recettori D-1, ma non dalla sulpiride (0,1-1 μ M), antagonista selettivo dei recettori D-2. L'azione della DA viene mimata dall'SKF 38393, agonista selettivo dei recettori D-1, ma non dal quinpirolo, dalla bromocriptina (BRC) e dalla lisuride (LYS), agonisti dei recettori D-2. L'8-bromo-c-AMP, analogo stabile dell'AMPC, è in grado di mimare gli effetti della DA sull'eccitabilità intrinseca e sinaptica. L'anfetamina (AMPH), aumentando il rilascio di DA endogena, riproduce, a concentrazioni micromolari, l'effetto degli agonisti dopaminergici di tipo D-1.

Effetto della deplezione dopaminergica. - La deplezione di DA dello striato non altera le caratteristiche intrinseche e sinaptiche delle cellule registrate, tuttavia produce una modificazione delle risposte neuronali ai diversi agenti farmacologici dopaminergici. Dopo trattamento con reserpina o con AMPT, le stesse concentrazioni di AMPH (0,1-10 μ M) in grado di produrre effetti inibitori in condizioni di controllo, risultano inef-

ficaci. Inoltre, dopo trattamento con reserpina la DA inibisce l'eccitabilità sinaptica anche a livelli iperpolarizzati di potenziale di membrana, suggerendo che l'effetto sulla e.p.s.p. dopo deplezione dopaminergica non è più voltaggio-dipendente. Nei ratti reserpinizzati anche la BRC e la LYS, che in condizioni di controllo sono inefficaci, riducono la e.p.s.p. in modo non voltaggi-dipendente. Negli animali reserpinizzati l'inibizione sinaptica sia della DA che della BRC e della LYS viene antagonizzata dalla sulpiride (0,1-1 μ M), ma non dall'SCH 23390 (0,1-1 μ M). La Tab. 1 riassume i dati farmacologici nei ratti normali e nei ratti con deplezione dopaminergica.

Discussione

I dati riportati dimostrano che la DA esercita un'azione inibitoria sui neuroni neostriatali registrati *in vitro*. Tale azione inibitoria è causata sia da una riduzione dell'eccitabilità sinaptica che di quella intrinseca. In entrambi i casi l'azione della DA è voltaggi-dipendente. Poiché l'azione della DA sull'eccitabilità intrinseca non viene bloccata da bloccanti del potassio o del calcio, ma viene mimata dalla TTX, si può supporre che l'azione della catecolamina nello striato sia dovuta ad una riduzione di una conduttanza voltaggio-dipendente per il sodio. Poiché tale azione viene minata dall'SKF 38393 e dall'8-bromo-AMPC, è evidente che tale azione è mediata da recettori D-1, che aumentano i livelli intracellulari di AMPc. L'evidenza sperimentale che anche lo effetto della AMPH viene antagonizzato dall'SCH 23390 suggerisce che i recettori D-1 sono coinvolti anche nella modulazione della DA endogena. Il blocco dell'effetto della AMPH dopo trattamento con reserpina o con AMPT suggerisce che gli effetti della AMPH non sono diretti sui recettori post-sinaptici, ma vengono mediati dal rilascio di DA endogena. Il pretrattamento con reserpina produce anche supersensibilità dei recettori DA sia pre che post-sinaptici

Tabella 1. - Schema riassuntivo degli effetti degli agonisti dopaminergici sull'attività elettrica delle cellule di neostriato

Trattamento	Agonista	Attività intrinseca	e.p.s.p.	Antagonismo	
				Sulpiride	SCH 23390
Non trattati	DA	↓	↓	-	+
	SKF 38393	↓	↓	-	+
	BRC	=	=	-	-
	LYS	=	=	-	-
	LY 171555	=	=	-	-
	AMPH	↓	↓	-	+
AMPT	AMPH	=	=	-	-
Reserpina	AMPH	=	=	-	-
	DA	↓	↓	+	-
	BRC	↓	↓	+	-
	LYS	↓	↓	+	-

in assenza di alterazioni delle proprietà intrinseche di membrana. L'osservazione che, dopo trattamento con reserpina, la DA riduce la e.p.s.p. anche a potenziali di membrana iperpolarizzati suggerisce che la deplezione di DA, causando ipersensibilità recettoriale, può svelare effetti elettrofisiologici pre-sinaptici che non vengono rilevati in condizioni di controllo. Analogamente, anche gli agonisti di tipo D-2, BRC e LYS producono, dopo reserpina, una inibizione pre-sinaptica che non viene rilevata in condizioni di controllo.

In conclusione, in condizioni di controllo, la DA produce una azione inibitoria post-sinaptica voltaggio-dipendente mediata da recettori D-1, mentre, dopo deplezione dopaminergica, i recettori D-2 mediano una riduzione del rilascio di neurotrasmettitori eccitatori dalle afferenze pre-sinaptiche.

Ricevuto il 2 marzo 1988.

Accettato il 7 aprile 1988.

BIBLIOGRAFIA

1. CROSSMAN, A.R. 1987. Primate model of dyskinesia: the experimental approach to the study of basal ganglia-related involuntary movement disorders. *Neuroscience* 21: 1-40.
2. STOOFF, J.C. & KEBABIAN, J.W. 1981. Opposing role for D-1 and D-2 dopamine receptors in the efflux of cyclic AMP in the rat striatum. *Nature* 294: 336-368.
3. WALAAS, S.I., ASWAD, D.V. & GREENGARD, P. 1983. A dopamine and cyclic AMP-regulated phosphoprotein enriched in dopamine innervated brain regions. *Nature* 301: 69-71.
4. BERNARDI, G., CALABRESI, P., MERCURI, N. & STANZIONE, P. 1986. Dopamine decreases the amplitude of excitatory post-synaptic potentials in rat striatal neurons. In: *Basal ganglia - structure and function*. M. Kenzie (Ed.). Plenum Press, New York. pp. 411-447.
5. CHESSELELT, M.F. 1984. Presynaptic regulation of neurotransmitter release in the brain. *Neuroscience* 2: 347-375.
6. CALABRESI, P., MERCURI, N., STANZIONE, P., STEFANI, A. & BERNARDI, G. 1987. Intracellular studies on the dopamine-induced firing inhibition of neostriatal neurons *in vitro*: evidence for D-1 receptor involvement. *Neuroscience* 20: 757-771.