Ann. Ist. Super. Sanità
Vol. 24, N. 4 (1988), pp. 547-550

INTERAZIONE FUNZIONALE DEI RECETTORI DOPAMINERGICI E TRATTAMENTO CRONICO CON DOPAMINO-ANTAGONISTI *

P. BARONE *(a, b)*, I. TUCCI *(b)* e S.A. PARASHOS *(b)*

(a) Clinica Neurologica, II Facoltà di Medicina e Chirurgia, Università degli Studi, Napoli
(b) Experimental Therapeutics Branch, NINCDS, Bethesda, MD, USA

Riassunto. - *Un incremento numerico dei recettori D-1 fu prodotto dal trattamento cronico con l'antagonista selettivo per il recettore D-1, ma non con quello selettivo per il recettore D-2. Tuttavia l'antagonista D-2, in associazione con l'antagonista D-1, bloccò l'incremento recettoriale dipendente da questo ultimo. Inoltre, il trattamento cronico con l'antagonista D-1 indusse supersensitività comportamentale alla somministrazione dell'agonista D-1 e subsensitività alla somministrazione dell'agonista D-2. Questi risultati sono attribuiti all'interazione recettoriale D-1/D-2 e possono avere implicazioni nel trattamento delle discinesie tardive da neurolettici.*

Summary (Functional interaction between dopaminergic receptors following chronic treatment with dopamine antagonists). - *Chronic treatment with a selective D-1 antagonist, but not with a D-2 antagonist, increased D-1 receptor density as evaluated by quantitative autoradiography. However, the D-2 antagonist, when administered with the D-1 antagonist, blocked the development of D-1 receptor upregulation. Furthermore, chronic D-1 antagonist treatment induced behavioral supersensitivity to the D-1 agonist administration and subsensitivity to the D-2 agonist. These results may be attributable to D-1/D-2 receptor interactions and may have implications for treatment of neuroleptic-induced extrapyramidal disorders.*

Introduzione

Il trattamento cronico con neurolettici induce nel ratto l'aumento del numero dei recettori dopaminergici (*upregulation*) e la comparsa di supersensitività comportamentale alla somministrazione di agonisti dopaminergici [1]. Questi effetti sono considerati come un utile modello per lo studio delle discinesie tardive, movimenti involontari che compaiono in pazienti trattati cronicamente con neurolettici. Dei due recettori dopaminergici classicamente riconosciuti [2], il recettore D-2 è stato indicato quale responsabile della supersensitività nell'animale e delle discinesie tardive nell'uomo, mentre più incerto è il ruolo del recettore D-1 [3].

Recenti studi indicano l'esistenza di complesse interazioni funzionali tra i due sottotipi recettoriali della dopamina. Per esempio, la stimolazione del recettore D-1 induce, mentre quella del D-2 inibisce, la formazione di AMP-ciclico in fettine di striato superfuse [4]. Alcuni comportamenti motori dell'animale quali stereotipie e attività locomotoria sono generati dalla concomitante stimolazione dei due recettori che agirebbero, in questi casi, in maniera sinergistica [5].

Nel presente studio si valuta il ruolo delle interazioni recettoriali dopaminergiche nello sviluppo di *upregulation* e di supersensitività comportamentale in conseguenza del trattamento cronico con antagonisti selettivi. Due approcci sono stati seguiti: a) autoradiografia del recettore D-1 dopo trattamento con l'antagonista D-1 SCH 23390 e l'antagonista D-2 aloperidolo da soli o in combinazione; b) valutazione dell'effetto del trattamento cronico con SCH 23390 sul comportamento indotto da agonisti dopaminergici nel ratto con lesione striatale unilaterale. Questo modello si è precedentemente mostrato utile per la caratterizzazione di interazioni D-1/D-2: l'agonista D-1 SKF 38393 induce *grooming* mentre l'agonista D-2 LY 171555 induce comportamento rotatorio; tuttavia l'agonista D-1 potenzia la rotazione quando somministrato con l'agonista D-2 [6].

Materiali e metodi

Studio biochimico. - Quattro gruppi di cinque ratti ciascuno (Sprague-Dawley 250-300 g) ricevettero uno

* 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.

dei seguenti trattamenti per 21 giorni: aloperidolo + SCH 23390; SCH 23390 + salina; aloperidolo + salina; salina. L'aloperidolo fu iniettato una volta al giorno (9:00) alla dose di 1 mg/kg, sottocutanea (s.c.); SCH 23390 fu iniettato due volte al giorno (9:30 e 16:00) alla dose complessiva di 0,1 mg/kg, s.c. Quattro giorni dopo la fine del trattamento, i ratti furono sacrificati; fettine di cervello di 10 µm furono incubate con varie concentrazioni (0,1-3 nM) di ^{125}I-SCH 23982 (un substrato selettivo per il recettore D-1) e sottoposte a procedimento autoradiografico [7]. I dati di *binding* furono analizzati con il programma LIGAND e statisticamente elaborati con l'analisi della varianza.

Studio comportamentale. - I ratti (Sprague-Dawley, 200-220 g) furono lesionati con iniezione di acido quinolinico nel nucleo caudato sinistro [6]. A distanza di 2 settimane, gli animali furono trattati con SKF 38393 (1-10 mg/kg, intraperitonale (i.p.)) o con LY 171555 (0,1-1 mg/kg, i.p.) o con l'associazione di LY 171555 (1 mg/kg) e SKF 38393 (10 mg/kg) ed il loro comportamento rotatorio fu registrato automaticamente mentre il *grooming* fu valutato da un osservatore. Tre giorni dopo, gli animali furono sottoposti al trattamento (per 21 giorni) con SCH 23390 (0,05 mg/kg, 3 volte al dì, s.c.; N = 42), con aloperidolo (1 mg/kg, s.c.; N = 35) o con soluzione salina (gruppo controllo; N = 38). Quattro giorni dopo l'ultima somministrazione gli animali furono di nuovo trattati ed analizzati come nel primo test. Per l'analisi dei dati fu applicato il test "t" di Student per dati appaiati ricavati per ciascun ratto prima e dopo il trattamento cronico.

Risultati

Studio biochimico. - Il legame recettoriale dello ^{125}I-SCH 23982 risultò specifico, saturabile e di alta affinità, indipendentemente dall'area analizzata e dal trattamento eseguito. L'affinità recettoriale non fu significativamente modificata dai trattamenti cronici in tutte le aree analizzate: i valori di Kd erano compresi tra 0,44 e 0,66 nM.

La somministrazione cronica dell'antagonista D-1, da solo, incrementò significativamente la densità del recettore D-1 nello striato, *accumbens* e tubercolo olfattorio nella misura del 30-40%; la somministrazione cronica del solo aloperidolo non ebbe effetto sulla densità recettoriale D-1; il trattamento combinato di aloperidolo + SCH 23390 aumentò significativamente la densità recettoriale solo nell'*accumbens* (Tab. 1).

Studio comportamentale. - Il trattamento cronico con SCH 23390 potenziò sensibilmente il *grooming* da stimolazione D-1 (Fig. 1) e ridusse significativamente il tipico comportamento rotatorio da stimolazione del recettore D-2 (Fig. 2).

Le rotazioni indotte dalla combinazione di LY 171555 + SKF 38393 furono anche esse ridotte dal blocco cronico del recettore D-1. Tuttavia SKF 38393 conservò la capacità di potenziare l'effetto dell'agonista D-2 (Fig. 2); in altre parole, nel gruppo trattato con SCH 23390 la combinazione di LY 171555 + SKF 38393 induceva più rotazioni di LY 171555 da solo, anche se in quantità inferiore al gruppo di controllo.

Discussione

Il presente studio conferma che il trattamento cronico con un antagonista selettivo del recettore D-1 induce *upregulation* dello stesso recettore senza modificarne l'affinità [8] mentre il trattamento con l'antagonista D-2 non ha alcun effetto. Tuttavia l'aloperidolo inibisce l'*upregulation* indotta dallo SCH 23390, quando i due farmaci vengono somministrati insieme cronicamente. Questo risultato riflette l'esistenza di interazioni funzionali tra recettori D-1 e D-2.

Questa interazione è evidente nello striato, turbercolo olfattorio e *claustrum* ma non nell'*accumbens* dove l'aloperidolo non è capace di prevenire l'*upregulation* indotta da SCH 23390. La peculiarità dell'*accumbens* può riflettere differenze regionali nella distribuzione dei due recettori. Un'altra spiegazione è fornita dagli effetti che i due recettori esercitano sulla produzione di AMP-ciclico in diverse aree cerebrali. Gli agonisti D-2 bloccano gli effet-

Tabella 1 - *Effetto della somministrazione cronica di dopamino-antagonisti sulla densità recettoriale D-1*

Trattamento	Striato	*Accumbens*	*Claustrum*	Tubercolo olfattorio
Controllo	30 ± 1,1	29 ± 1,3	13 ± 0,6	27 ± 0,8
SCH 23390	40 ± 1,3 *(a)*	39 ± 1,1 *(a)*	17 ± 0,5	36 ± 1,2 *(a)*
Aloperidolo	30 ± 1,3	28 ± 1,0	15 ± 0,7	26 ± 0,3
Aloperidolo+ SCH 23390	34 ± 1,3 *(b)*	36 ± 0,9 *(a)*	16 ± 0,9	29 ± 1,2 *(c)*

Medie + SEM dei valori B_{max} espressi in fmol/mg di tessuto
(a) = $p < 0,01$ comparato al controllo o aloperidolo
(b) = $p < 0,05$ comparato a SCH 23390
(c) = $p < 0,01$ comparato a SCH 23390

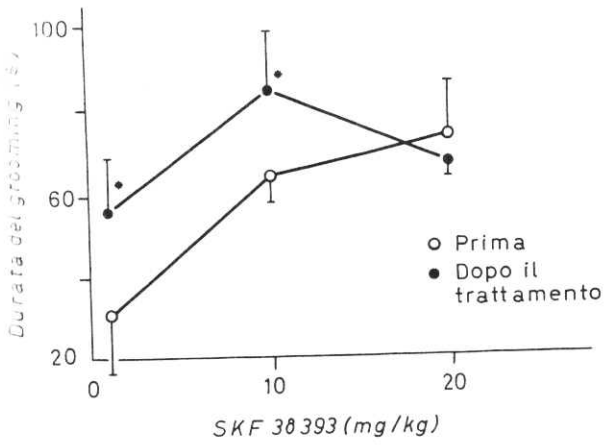

Fig. 1. - Effetto del trattamento cronico con SCH 23390 sul *grooming* indotto da SKF 38393. Nota la comparsa di supersensitività. I valori sono medie ± SEM ottenuti da almeno 6 ratti per ogni dose di SKF 38393. * = p < 0,05.

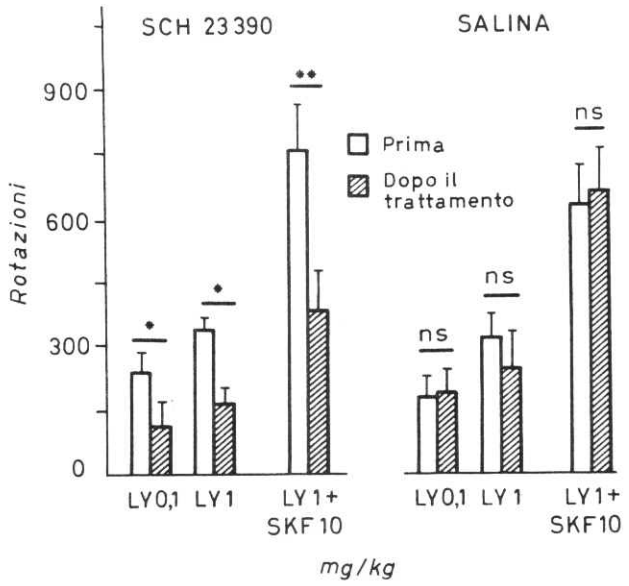

Fig. 2. - Effetto del trattamento cronico con SCH 23390 sul comportamento rotatorio di ratti unilateralmente lesionati nello striato. Nel gruppo trattato si osserva una significativa riduzione delle rotazioni indotte da LY 171555 (0,01 o 0,1 mg/kg). Il trattamento cronico riduce anche il numero totale di rotazioni indotte dall'associazione LY 171555 + SKF 38393. Tuttavia l'agonista D-1 è ancora capace di potenziare l'effetto dell'agonista D-2 (confronta la colonna "LY1" con "LY1 + SKF 10"). I valori rappresentano medie ± SEM di gruppi di almeno 10 animali per ciascun trattamento. * = p < 0,05; ** = p < 0,01.

ti stimolatori degli agonisti D-1 nello striato ma non nell'*accumbens* [9]. Allo stesso modo, il blocco del recettore D-2 potrebbe prevenire l'*upregulation* del recettore D-1 ostacolando l'azione dello SCH 23390 sull'adenilatociclasi nello striato ma non nell'*accumbens*.

La supersensitività comportamentale in risposta all'agonista D-1 può essere correlata all'aumento dei recettori D-1, in accordo con quanto osservato da altri [10]. Anche la subsensitività all'agonista D-2 può essere secondaria all'*upregulation* del recettore D-1; il comportamento rotatorio è attribuito alla stimolazione dei recettori D-2 nello striato intatto [6] ed è noto che in questa struttura i due recettori esercitano effetti opposti: è ipotizzabile che l'aumento numerico dei recettori D-1 contrasti l'effetto secondario alla stimolazione dei recettori D-2.

In apparente contrasto con quanto detto, l'associazione dei due agonisti potenzia le rotazioni indotte dal solo agonista D-2, anche dopo il trattamento cronico con SCH 23390. Tuttavia l'effetto potenziante dell'agonista D-1 sull'agonista D-2 è spiegato da interazioni tra strutture anatomiche distanti. E' noto che l'inizio della rotazione è dipendente dall'attività dopaminergica nello striato intatto [6], mentre la velocità di rotazione è proporzionale all'attività dopaminergica nell'*accumbens* [11], area particolarmente ricca in recettori D-1. E' ipotizzabile, quindi, che l'aumento dei recettori striatali D-1, dovuto al trattamento cronico, modifichi l'espressione della rotazione (dipendente dallo striato) ma non la velocità alla quale essa si compie (dipendente dall'*accumbens*) e quindi non modifichi l'abilità dell'agonista D-1 di "accelerare" le rotazioni indotte dall'agonista D-2.

Il presente studio suggerisce che i disordini del movimento secondari al trattamento cronico con neurolettici possono essere dovuti ad una alterazione dell' interazione D-1/D-2; il ristabilire un bilanciamento funzionale tra i due recettori può essere una nuova strategia nel trattamento dei disordini del movimento.

Ricevuto il 7 marzo 1988.
Accettato il 7 aprile 1988.

BIBLIOGRAFIA

1. MULLER, P. & SEEMAN, P. 1978. Dopaminergic supersensitivity after neuroleptics: time course and specificity. *Psychopharmacology* **60**: 1-11.

2. KEBABIAN, J.W. & CALNE, D.B. 1979. Multiple receptors for dopamine. *Nature* **277**: 93-96.

3. FLEMINGER, S., RUPNIAK, N.M.J., HALL, M.D., JENNER, P. & MARSDEN, C.D. 1983. Changes in apomorphine induced stereotypy as a result of subacute neuroleptic treatment correlates with increased D-2 receptors but not with increases in D-1 receptors. *Biochem. Pharmacol.* **32**: 2921-2927.

4. STOOF, J.C. & KEBABIAN, J.W. 1981. Opposing roles for D-1 and D-2 dopamine receptors in efflux of cyclic AMP from rat neostriatum. *Nature* **294**: 366-368.

5. BARONE, P., BRAUN, A.R. & CHASE, T.N. 1986. D-1/D-2 dopamine receptor interactions in the regulation of extrapiramidal motor function: studies in animal models and parkinsonian patients. *Clin. Neuropharmacol.* **9S4:** 128-130.

6. BARONE, P., DAVIS, T.A., BRAUN, A.R. & CHASE, T.N. 1986. Dopaminergic mechanisms and motor function: characterization of D-1 and D-2 dopamine interactions. *Eur. J. Pharmacol.* **123:** 109-114.

7. PARASHOS, S., BARONE, P., TUCCI, I. & CHASE, T.N. 1987. Attenuation of D-1 antagonist-induced D-1 receptor upregulation by concomitant D-2 receptor blockade. *Life Sci.* **41:** 2279-2284.

8. PORCEDDU, M.L., ONGINI, E. & BIGGIO, G. 1985. ^{3}H-SCH 23390 binding sites increase after chronic blockade of D-1 dopamine receptors. *Eur. J. Pharmacol.* **118:** 367-370.

9. STOOF, J.C. & VERHEIJDEN, P.F.H.M. 1986. D-2 receptor stimulation inhibits cAMP formation brought about by D-1 receptor stimulation in rat neostriatum but not *nucleus accumbens*. *Eur. J. Pharmacol.* **129:** 205-206.

10. HESS, E.J., ALBERS, L.J., HOANG, L. & CREESE, I. 1986. Effects of chronic SCH 23390 treatment on the biochemical and behavioral properties of D-1 and D-2 dopamine receptors: potentiated behavioral responses to a D-2 dopamine agonist after selective D-2 dopamine receptor upregulation. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **238**: 946-854.

11. FREED, C.D. & YAMAMOTO, B.K. 1985. Regional brain dopamine metabolism: a marker for the speed, direction and posture of moving animals. *Science* **229:** 62-65.