

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

Zdzisław KLEINROK, Ewa JAGIEŁŁO-WÓJTOWICZ

Ośrodkowe działanie ergotioneiny

Центральное действие эрготионеина

Central Action of Ergothioneine

Crossland i wsp. (6, 7, 8) stwierdzili, że wyciągi z mózdzku wstrzyknięte do tętnic mózgowych działają pobudzająco na elektryczne czynności mózdzku, lecz pozostają bez wpływu na neurony kory mózgowej (13). Aktywnym czynnikiem występującym w tych wyciągach określonym jako „czynnik mózdzkowy” okazała się ergotioneina (3, 4, 5, 6, 7), czyli betaina 2-tiolohistydyny. Obecność ergotioneiny stwierdzono w tkance mózgowej szczura, królika i świnki morskiej (7). Stężenie ergotioneiny w różnych częściach ośrodkowego układu nerwowego waha się w granicach od 0,5 do 3,68 $\mu\text{g/g}$, przy czym najniższe wartości stwierdzono w podwzgórzcu, a najwyższe w jądrze soczewkowatym i płacie węchowym (2).

W dostępnym piśmiennictwie nie ma prac dotyczących ośrodkowego działania ergotioneiny. Dlatego też celem tej pracy było przebadanie wpływu ergotioneiny po jej dokomorowym podaniu na zachowanie się szczurów. Wybór takiej drogi podania został spowodowany tym, że ergotioneina nie penetruje bariery krew-mózg (2).

METODYKA

Doświadczenia przeprowadzono na białych szczurach szczepu Wistar, obu płci (130—150 g). Ergotioneinę podawano w 0,9% roztworze chlorku sodu do prawej bocznej komory mózgu (i.v.c.) w objętości 20 μl /szczura, zgodnie z metodą opisaną przez Hermana (9). Zwierzęta grup kontrolnych otrzymywały takie same ilości rozpuszczalnika. Grupy doświadczalne liczyły 8—10 szczurów. Analizę statystyczną

przeprowadzono posługując się t-testem Studenta w modyfikacji Rydygiera (15, 16). W doświadczeniach stosowano: ergotioneinę dihydrate (Fluka) siarczan (\pm) amfetaminy (Polfa), wodnik chloralu (Polfa), rezerpinę (Rausedyl-Richter), heksobarbital (VEB), nialamid (Nuredal-Egypt), 90% etanol (Lubelskie Zakłady Przemysłu Spirytusowego i Drożdżowego), droperidol (Richter). Wykonano następujące badania:

1. Toksyczność ostra

Toksyczność ostrą oznaczano jako LD_{50} na szczurach posługując się metodą Litchfielda i Wilcoxon (14). Ergotioneinę podawano i.v.c. w dawkach od 1—1000 μ g. W ciągu 48 godz. obserwowano ogólne zachowanie się szczurów oraz rejestrowano ilość zwierząt padłych.

2. Wpływ na ruchliwość spontaniczną

Ergotioneinę podawano w dawkach 1; 5; 25; 50; 100 i 250 μ g i.v.c. 15 min. przed testem. Ruchliwość mierzono metodą fotokomórkową przez 30 min. Ponadto dla dwóch efektywnych dawek 50 i 250 μ g rejestrowano ruchliwość przez 30 min., w 30, 60 i 120 min. od iniekcji ergotioneiny.

3. Wpływ na ciepłotę ciała szczurów normotermicznych

Ciepłotę ciała mierzono termometrem termistorowym. Przed podaniem ergotioneiny dokonano trzech pomiarów w odstępach 1/2 godz., a średnią z nich przyjmowano za temperaturę wyjściową. Ciepłotę ciała mierzono w 15 min. oraz 0,5; 1; 2; 3 i 4 godz. od podania ergotioneiny w dawkach 50 i 250 μ g.

4. Wpływ na drgawki elektryczne

Badania przeprowadzono stosując zmodyfikowany przez Tomana i wsp. (19) maksymalny szok elektryczny. Jako kryterium przyjęto ilość zwierząt wykazujących toniczny skurcz prostowników, toniczny skurcz zginaczy oraz liczbę zwierząt padłych. Ergotioneinę podawano w dawkach 50 i 250 μ g 15 min. przed bodźcem elektrycznym.

5. Wpływ na działanie substancji narkotycznych

Szczurom poddanym działaniu ergotioneiny w dawce 50 lub 250 μ g 15 min. później stosowano heksobarbital (80 mg/kg i.p.), wodnik chloralu (250 mg/kg i.p.) i etanol (4 mg/kg i.p.). Za kryterium przyjmowano czas trwania snu narkotycznego, tj. czas od momentu zaniku do powrotu odruchu podstawy.

6. Wpływ na ruchliwość szczurów poddanych działaniu:

a) amfetaminy

Szczurom podawano siarczan d,l-amfetaminy (1 mg/kg s.c.) 30 min. przed testem. Następnie 15 min. przed pomiarem stosowano ergotioneinę w dawkach 50 i 250 μ g. Ruchliwość mierzono metodą fotokomórkową w ciągu 30 min.

b) rezerpiny

Poszczególnym grupom szczurów, które otrzymywały 18 godz. wcześniej rezerpinę (2,5 mg/kg i.p.) podawano ergotioneinę w dawce 50 i 250 μ g 15 min. przed testem.

c) nialamidu

Szczurom poddanym działaniu nialamidu (100 mg/kg i.p. 16 godz. wcześniej) stosowano ergotioneinę w dawkach 50 i 250 μ g 15 min. przed testem.

7. Wpływ na ciepłotę ciała szczurów poddanych działaniu:

a) rezerpiny

Szczurom, które otrzymywały rezerpinę (2,5 mg/kg i.p. 18 godz. wcześniej), podawano ergotioneinę w dawce 50 i 250 μ g. W 15 min. później mierzono ciepłotę ciała szczurów co 30 min. przez 6 godz. a następnie po 24 godz. od podania ergotioneiny.

b) nialamidu

Szczurom, które otrzymały nialamid (100 mg/kg i.p. 16 godz. wcześniej), podawano ergotioneinę w dawce 50 i 250 μ g. Ciepłotę ciała mierzono 15 min. po iniekcji ergotioneiny w sposób analogiczny, jak opisano poprzednio.

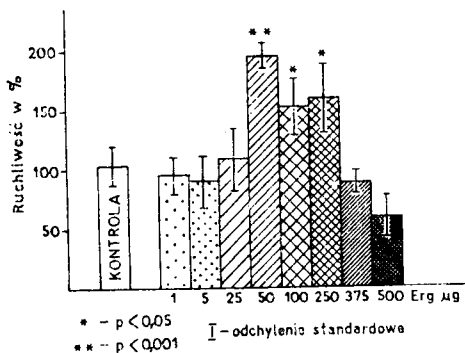
8. Wpływ na katalepsję wywołaną droperidolem

W 1 godz. po podaniu droperidolu (2,5 mg/kg i.p.) szczurom podawano ergotioneinę w dawce 50 i 250 μ g. W 15 min. później oceniano katalepsję za pomocą sześciu testów (18) co 30 min. podczas 4 godz. obserwacji.

WYNIKI

1. Toksyczność ostra

Toksyczność ostra ergotioneiny, oznaczona jako LD_{50} wynosi 640 (441—928) μ g/szczura i.v.c. Przy stosowaniu dawek większych od 250 μ g u szczurów występuje bardzo silne pobudzenie ruchowe oraz drgawki kloniczne utrzymujące się przez pierwszą godzinę obserwacji.



Ryc. 1. Wpływ różnych dawek ergotioneiny na ruchliwość spontaniczną szczurów mierzoną w ciągu 30 min.

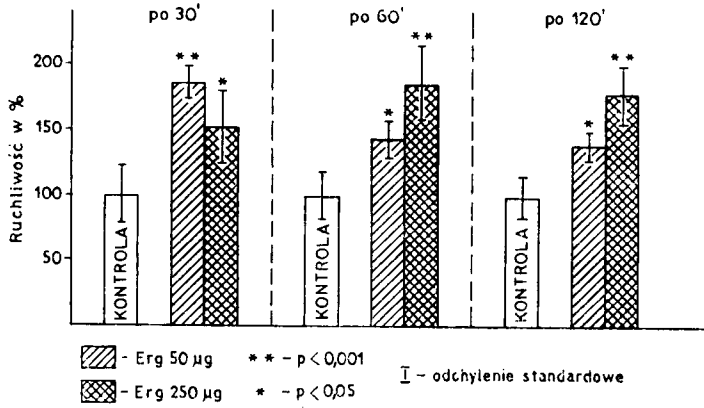
Influence of different doses of ergotioneine on the spontaneous locomotor activity of rats measured during 30 min.

2. Wpływ na ruchliwość spontaniczną

Wpływ ergotioneiny w dawkach od 1 do 500 μ g przedstawiono na ryc. 1. Ergotioneina w dawkach 1, 5 i 25 μ g nie wpływa na ruchliwość szczurów. Zastosowana natomiast w dawkach 50, 100 i 250 μ g istotnie zwiększa ruchliwość szczurów. Ergotioneina podana w dawkach 50 i 250 μ g zwiększa także istotnie ruchliwość szczurów, mierzoną po 30, 69 i 120 min. od iniekcji (ryc. 2).

3. Wpływ na ciepłotę ciała szczurów normotermicznych

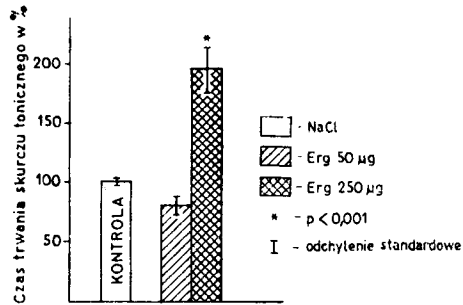
Ergotioneina podana w dawkach 50 i 250 μ g nie wpływa na ciepłotę ciała szczurów normotermicznych w ciągu 4 godz. pomiaru.



Ryc. 2. Ruchliwość spontaniczna szczurów mierzona w ciągu 30 min. Spontaneous locomotor activity of rats measured during 30 min. in various time after administration of ergothioneine

4. Wpływ na drgawki elektryczne

Ergotioneina w dawce 50 µg nie wpływa na drgawki elektryczne u szczurów. Podana natomiast w dawce 250 µg istotnie nasila czas trwania tonicznego skurczu prostowników (ryc. 3).



Ryc. 3. Wpływ ergotioneiny na drgawki elektryczne u szczurów
Influence of ergothioneine on the electric seizures in rats

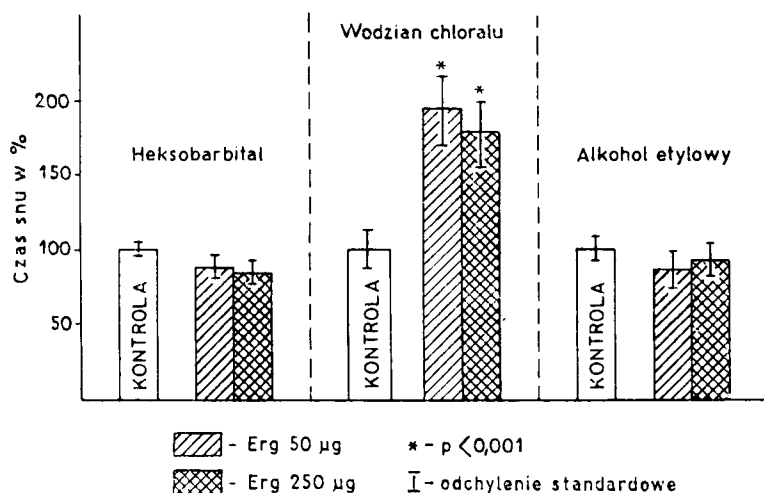
5. Wpływ na działanie substancji narkotycznych

Ergotioneina w dawkach 50 i 250 µg nie wpływa na czas trwania snu wywołanego podaniem heksobarbitalu i alkoholu etylowego, a istotnie przedłuża narkotyczne działanie wodnika chloralu (ryc. 4).

6. Wpływ na ruchliwość szczurów poddanych działaniu:

a) amfetaminy

Ergotioneina zastosowana w dawkach 50 i 250 µg nie wpływa na ruchliwość szczurów pobudzonych amfetaminą.



Ryc. 4. Wpływ ergotioneiny na czas trwania snu wywołanego podaniem narkotyków
Influence of ergotioneine on the duration of narcotic-sleeping time in rats

b) rezerpiny

Po podaniu ergotioneiny w dawkach 50 i 250 µg szczurom rezerpinizowanym zaobserwowano bardzo silne pobudzenie ruchowe oraz napady drgawek klonicznych, utrzymujące się przez 6 godz. Po tym czasie zwierzęta zachowują się podobnie jak w grupie kontrolnej.

c) nialamidu

Ergotioneina w dawkach 50 i 250 µg zastosowana szczurom, którym uprzednio podano nialamid, powoduje bardzo silne pobudzenie ruchowe oraz zwiększenie agresywności. W 1 godz. po podaniu ergotioneiny zauważono walkę szczurów parami, utrzymującą się do 6 godz.

7. Wpływ na ciepłotę ciała szczurów poddanych działaniu:

a) rezerpiny

Ergotioneina zastosowana w dawkach 50 i 250 µg nie wpływa na ciepłotę ciała szczurów rezerpinizowanych.

b) nialamidu

Obie dawki ergotioneiny nie zmieniają ciepłoty ciała szczurów poddanych uprzednio działaniem nialamidu.

8. Wpływ na katalepsję wywołaną droperidolem

Ergotioneina w dawkach 50 i 250 µg w ciągu 6 godz. obserwacji nie wpływa na droperidolową katalepsję u szczurów.

OMÓWIENIE WYNIKÓW

Badania wykazały, że ergotioneina wywiera istotne działanie na ośrodkowy układ nerwowy szczurów. Działanie to w większości testów ma charakter pobudzający, co zgodne jest z wynikami Avanzino i wsp. (1), którzy wykazali pobudzające efekty ergotioneiny na neurony pnia mózgu. Jedynie w przypadku wodnika chloralu obserwowano nasilenie jego narkotycznego działania przez ergotioneinę.

Na podstawie wyników można przypuszczać, że działanie ergotioneiny może być związane z metabolizmem katecholamin, które pobudzają ośrodkowy układ nerwowy (12, 20). Potwierdzeniem tego może być silne pobudzenie ruchowe i agresywność u szczurów poddanych działaniu nialamidu. Również antagonizowanie depresji porezerpininowej przez ergotioneinę może być związane ze zwiększoną wrażliwością receptorów noradrenergicznych. Z drugiej strony brak potęgującego działania amfetaminy przez ergotioneinę może wskazywać na jej działanie pośrednie poprzez hamowanie aktywności enzymów biorących udział w biosyntezie amin katecholowych. Potwierdzają to wstępne badania przeprowadzone w tut. Zakładzie, w których wykazano hamujący wpływ ergotioneiny na aktywność MAO. Zmniejszenie aktywności glukozy-6-fosfo-dehydrogenazy (17) wskazuje również na enzymatyczny mechanizm działania ergotioneiny.

Nie można także wykluczyć działania ergotioneiny poprzez zaburzenie aktywności innych neuromediatorów. Szczególnie istotne ze względu na podobieństwo w budowie chemicznej może być porównanie z histaminą. Wyraźne depresyjne, ośrodkowe działanie histaminy (10, 11) oraz pobudzające działanie ergotioneiny może wynikać z konkurencyjnego antagonizmu obu tych związków. Wyjaśnienie mechanizmu działania ergotioneiny będzie przedmiotem dalszych badań.

PIŚMIENNICTWO

1. Avanzino G. L., Bradley P. B., Comis S. D., Wolstencroft J. H.: *J. Neuropharmacol.*, 5, 331, 1966.
2. Briggs I.: *J. Neurochemistry*, 19, 27, 1972.
3. Crossland J.: In *Metabolism of the Nervous System*, 523, 1957.
4. Crossland J.: *J. Neurochemistry*, 657, 1962.
5. Crossland J., Garven J. D., Mitchell J. F.: *J. Physiol. (Lond)*, 182, 427, 1966.
6. Crossland J., Mitchell J. F.: *J. Physiol. (Lond.)*, 132, 391, 1956.
7. Crossland J., Mitchell J. F., Woodruff G. N.: *J. Physiol. (Lond)*, 182, 427, 1966.
8. Crossland J., Woodruff G. N., Mitchell J. F.: *Nature*, 203, 1388, 1964.
9. Herman Z. S.: *Psychopharmacologia*, 16, 369—374, 1970.
10. Jagiełło-Wójtowicz E.: *Pol. J. Pharmacol. Pharm.* 25, 503—510, 1973.
11. Jagiełło-Wójtowicz E.: *Pol. J. Pharmacol. Pharm.* 25, 511—518, 1973.

12. Kleinrok Z., Żebrowska-Łupina I.: *Psychopharmacologia*, **20**, 348—354, 1971.
 13. Krnjević K., Randić M., Straughan D. W.: *Nature*, **205**, 603, 1965.
 14. Litchfield J. T., Wilcoxon F.: *J. Pharmacol.*, **96**, 99—113, 1949.
 15. Rydygier J.: *Pol. Tyg. Lek.*, **25**, 739, 1947.
 16. Rydygier J.: *Pol. Tyg. Lek.*, **25**, 775, 1947.
 17. Sawiniec Z.: Wpływ ergotioneiny na aktywność dehydrogenazy glukozy-6-fosforanowej erytrocytów. (Praca doktorska) Lublin 1972.
 18. Simon P., Tillement J. P., Lwoff J. M., Boissier J. R.: *Therapie*, **23**, 849—861, 1968.
 19. Toman J. E. P., Swinyard E. A., Goodman L. S.: *J. Neurophysiol.*, **9**, 231—239, 1946.
 20. Żebrowska-Łupina I., Malec D., Kleinrok Z.: *Acta Physiol. Pol.* — (w druku).
- Otrzymano 16 I 1975.

РЕЗЮМЕ

Исследовано влияние эрготионеина, применяемого в латеральный желудочек мозга, на поведение крыс. Доказано, что эрготионеин в дозах 50 и 250 мкг обладает возбуждающим действием на центральную нервную систему. Возбуждающее действие проявляется в повышении моторной подвижности, уменьшении резерпиновой депрессии, увеличении стимулирующего действия ниамида и в продолжении электрических судорог. Кроме этого доказано, что эрготионеин продолжает действие наркозы, вызванного хлоралгидратом, а не влияет на температуру тела и дроперидоловую катаlepsию. Проведенные исследования доказывают, что эрготионеин обладает слабым, но отчетливым действием на центральную нервную систему.

SUMMARY

The influence of ergothioneine administered into the lateral brain ventricle on the behaviour of rats was investigated. It was found that ergothioneine administered in doses of 50 and 250 µg has an excitatory action on the central nervous system, which is manifested by an increase in the locomotor activity, a decrease in reserpine evoked depression potentialisation of nialamide action and prolongation of duration of electric seizures. Besides it was found that ergothioneine did not have an influence on the body temperature of normothermic and reserpined animals, and on the catalepsy evoked by droperidol but prolonged the duration of narcosis evoked by choral hydrate. The performed experiments have shown that ergothioneine has a slight excitatory action on the central nervous system.

