

7. ZUSAMMENFASSUNG / SUMMARY

Die Entwicklung von neurovegetativen Substanzen (z. B. Dopamin-Antagonisten), deren Bindungsstellen nicht nur im ZNS, sondern auch in der Retina repräsentiert sind, führten zu der Frage, in welchem Maße Retinafunktionen durch die Interaktion von systemisch applizierten, dopaminergen Prüfsubstanzen im pharmakologischen und toxikologischen Dosisbereich mit Retina-Rezeptoren beeinflusst werden. Mit Hilfe der Elektretinographie (ERG) am Hund sollte untersucht werden, inwieweit die ERG-Parameter von Bedeutung sind, um diese retinalen Funktionsbeeinträchtigungen bzw. Nebenwirkungen am Auge frühzeitig zu erfassen und welche Schlußfolgerungen sich hieraus ergeben.

Als Voraussetzung für die in-vivo ERG-Untersuchungen, galt zunächst zu klären, welche Rezeptortypen der D₂-Rezeptorfamilie in der caninen Retina vorkommen und wo solche Rezeptoren in der caninen Retina lokalisiert sind. Anhand von Rezeptorbindungsstudien wurde in der caninen Retina eine Rezeptorverteilung von etwa 40% Dopamin-D₂- und 60% Dopamin-D₄-Rezeptoren aufgezeigt. Die Beteiligung von D₃-Rezeptoren war fraglich. Vergleichend hierzu traten bei der bovinen Retina 20% D₂-, 80% D₄- und keine D₃-Rezeptoren auf. Mittels Emulsionsautoradiographie wurden die Dopamin-Rezeptoren größtenteils in den beiden plexiformen Schichten und der inneren nukleären Schicht der caninen Retina lokalisiert.

Die Beeinflussung der ERG-Parameter durch dopaminerge Prüfsubstanzen wurde an 5 weiblichen und 5 männlichen Beagles untersucht. Die Verwendung von verschiedenen Dosen von Dopaminagonisten (Quinpirol, Apomorphin, Levodopa) sowie des D₄-Antagonisten LU 111995 am narkotisierten Tier zeigte, daß Dosiswirkungsbeziehungen sich am deutlichsten anhand der b-Wellenamplitude der skotopischen Stäbchenantwort darstellen lassen. Während bei den Dopaminagonisten Quinpirol und Apomorphin eine Amplitudensenkung erzielt wurde, ergab sich mit Levodopa eine inverse Wirkung. Bei dem Antagonisten LU 111995 wurde eine Zunahme der b-Wellenamplitude beobachtet. Haloperidol und Sulpirid ergaben keine ERG-Wirkung und bei Clozapin wurde eine Depression der b-Welle festgestellt. Eine antidopaminerge Wirkung, d. h. eine Aufhebung der Amplitudensenkung, konnte mit diesen Substanzen gezeigt werden.

wenn die Retina durch die Zufuhr von Dopaminagonisten stimuliert wurde. Hieraus wurde resümiert, daß für die Beurteilung der caninen Retinafunktion mittels ERG das verwendete Verfahren der Rezeptorstimulation durch Dopaminagonisten geeignet ist, um die Nachweisempfindlichkeit für pharmakologische Effekte an diesem Organ zu erhöhen.

Die Interpretation der gewonnenen ERG-Befunde basiert auf der Vorstellung (DAW ET AL. 1990), daß Dopamin in der Retina einerseits durch postsynaptische D_1 -Rezeptoren wirkt, andererseits durch präsynaptische D_2 -Autorezeptoren die Freisetzung dieses Transmitters hemmt. In diesem Sinne wurde die Erhöhung der b-Wellenamplitude unter Levodopa als Folge der Interaktion von Dopamin mit postsynaptische D_1 -Rezeptoren, die durch Quinpirol und Apomorphin verursachte Senkung der b-Wellenamplitude als Folge der Interaktion mit präsynaptischen D_2 -Rezeptoren interpretiert.

Aus den ERG-Ergebnissen wurde der Schluß gezogen, daß die signifikante Reduktion der b-Welle nach der Gabe von Quinpirol und Apomorphin als ein temporärer, toxischer Effekt auf die Retina angesehen werden kann. Die Zunahme der b-Welle bei der Applikation von Levodopa und LU 111995 war kein toxischer Effekt, da der Amplitudenwert die physiologischen Werte beim wachen Hund nicht überschritt. Elektrophysiologisch stellte die signifikante Erniedrigung der b-Welle bei Quinpirol und Apomorphin einen Sensitivitätsverlust und die signifikante Steigerung der b-Welle bei der Gabe von Levodopa und LU 111995 eine Sensitivitätserhöhung der Retina auf einen adäquaten Lichtreiz dar.

Eine vergleichende ERG-Messung legte beim narkotisierten und wachen Hund evident dar, daß besonders die b-Wellenamplitude am wachen Hund etwa 30% höher ist als am narkotisierten. Außerdem konnte in separaten Versuchen am narkotisierten Hund gezeigt werden, daß die c-Welle, die den Funktionszustand des retinalen Pigmentepithels repräsentiert, nur bei einem Untersuchungsintervall von 24h eine gute Reproduzierbarkeit von Amplitude und Gipfelzeit erreichte.

Michael Schmitt

Investigation of the relevance of ERG-parameters on dogs in order to detect or early recognize pharmacological and toxicological effects of dopaminergic test substances on the eye.

SUMMARY

The development of neurovegetative substances (dopamine-antagonists), the binding sides of which are represented not only in the CNS, but also in the retina led to the question, to which extent the function of the retina is influenced by the interaction of systemically treated, dopaminergic test substances in the pharmacological and toxicological dose-range with retina receptors. By means of the electroretinography (ERG) on the dog, the relevance of ERG-parameters should be investigated in order to early detect these retinal dysfunctions respectively the side-effects on the eye and which conclusions result from that fact.

As precondition for the in-vivo ERG-investigations it was necessary to clarify which types of D₂-like receptors occur in the canine retina and where such receptors are localized there. Receptor binding studies revealed a receptor share of approximately 40 % of dopamine-D₂-receptors and of 60 % dopamine-D₄-receptors in the canine retina. The existence of D₃-receptors is uncertain. Compared to that, a share of 20 % D₂-receptors, 80 % D₄- and no D₃-receptors was detected in the bovine retina. By means of emulsion autoradiography, the dopaminergic receptors were mainly localized in the two plexiform layers and in the inner nuclear layers of the canine retina.

The experiments were carried out on 5 female and 5 male beagles, in order to investigate the influencing on the ERG-parameters exerted by dopaminergic test substances. The treatment of different doses of dopamine agonists (quinpirole, apomorphine, levodopa), as well as of the D₄-antagonist LU 111995 with the anesthetized animal revealed, that dose-response relations can be most significantly proved by the b-wave amplitude of the scotopic rod response. By means of the dopamine agonists quinpirole and apomorphine an amplitude decrease was produced, whereas an inverse effect was observed with levodopa. When using the antagonist LU 111995 an increase of the b-wave amplitude was observed. No ERG-effect was caused

by haloperidol and sulpiride, while clozapine produced a depression of the b-wave. It was possible to prove an antidopaminergic effect by these substances, that means an elimination of the amplitude decrease, when the retina was stimulated by adding dopamine agonists. This result led to the conclusion that for the assessment of the canine retinal function by means of ERG, receptor stimulation by dopamine agonists is the appropriate procedure for increasing the detection sensitivity for pharmacological effects on this organ.

The interpretation of the achieved ERG-results is based on the theory (DAW ET AL. 1990), that dopamine, on one hand, takes an effect via postsynaptic D_1 -receptors, and, on the other hand, acts as inhibitor of the transmitter release via presynaptic D_2 -autoreceptors. In this sense the amplitude increase of the b-wave produced by levodopa was interpreted as a consequence of interaction of dopamine with postsynaptic D_1 -receptors, the amplitude decrease of the b-wave produced by quinpirole and apomorphine was seen as consequence of the interaction with presynaptic D_2 -receptors.

The ERG-investigations led to the conclusion that the significant decrease of the b-wave after the application of quinpirole and apomorphine can be considered as a temporary, toxicological effect on the retina. The increase of the b-wave was no toxicological effect after the application of levodopa and LU 111995, because the value of the amplitude did not exceed the physiological value of the conscious dog. Electrophysiologically the significant decrease of the b-wave produced by quinpirole and apomorphine proved a loss of sensitivity and the significant increase of the b-wave after treatment with levodopa and LU 111995 proved an increase of sensitivity of the retina to an adequate light stimulus.

A comparative ERG-measurement carried out with anesthetized and conscious dogs detected an approximately 30% higher b-wave amplitude with the conscious dog than with the anesthetized dog. In addition separate experiments with anesthetized dogs demonstrated that the c-wave, representing the functional state of the retinal pigment epithel, only achieves a good reproducibility of amplitude and peak time at an investigation interval of 24 hours.