

การศึกษาทางไอออนโตเฟอร์ติก ของเอ็นจีโอเทนซิน II ต่อเซลล์ประสาท
เปอร์กินเจในสมองส่วนซีรีเบลลัมของหนู



นาย เสน่ห์ สงวนรังศิริกุล

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สหสาขา วิชา สรีรวิทยา

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

พ.ศ. 2526

010587

i18118367

**Iontophoretic Study of Angiotensin II on Cerebellar
Purkinje Cells of the Rat**

Mr. Sanay Saganrungsirikul

**คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย**
A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science

Interdepartment of Physiology

Graduate School

Chulalongkorn University

1983

ISBN 974-563-031-4

Thesis Title Iontophoretic Study of Angiotensin II on Cerebellar
 Purkinje Cells of the Rat
By Mr. Sanay Saganrungsirikul
Interdepartment Physiology
Thesis Advisor Associate Professor Pavich Tongroach, Ph.D.



Accepted by the Graduate school, Chulalongkorn University in
Partial Fulfillment of the Requirements for the Master's Degree.

..... *S. Bunnag* Dean of Graduate School
(Associate Professor Supradit Bunnag, Ph.D.)

Thesis Committee

..... *Ayus Pichaicharnarong* Chairman
(Professor Ayus Pichaicharnarong, Ph.D.)

..... *Pavich Tongroach* Member
(Associate Professor Pavich Tongroach, Ph.D.)

..... *Ratree Sudsuang* Member
(Associate Professor Ratree Sudsuang, Ph.D.)

..... *Pongsak Kunluan* Member
(Assistant Professor Pongsak Kunluan)

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การศึกษาทางไอออนโตเฟอเรติก ของแอสจินไอเทนซิน II ต่อเซลล์ประสาทเปอร์กินเจในสมองส่วนซีรีเบลลัมของหนู
ชื่อนิติ	นาย เสน่ห์ สงวนรังศิริกุล
อาจารย์ที่ปรึกษา	รองศาสตราจารย์ ดร.ภาวิศ ทองโรจน์
ภาควิชา	สหสาขาวิชา (สรีรวิทยา)
ปีการศึกษา	2526



บทคัดย่อ

โดยการใช้เทคนิคทางไอออนโตเฟอเรติก ในการศึกษาผลของสารเพ็พไทด์แอสจินไอเทนซิน II ต่อเซลล์ประสาทเปอร์กินเจในเปลือกสมองส่วนซีรีเบลลัมของหนู ซึ่งได้มีการพบสารเพ็พไทด์แอสจินไอเทนซิน II ในเส้นใยประสาทที่อยู่รอบๆ เซลล์ประสาทเปอร์กินเจพบว่า แอสจินไอเทนซิน มีผลลดความถี่ของการปลดปล่อยกระแสประสาทของเซลล์ประสาทเปอร์กินเจ และยังพบอีกว่าแอสจินไอเทนซิน II มีผลเพิ่มการตอบสนองของเซลล์ประสาทเปอร์กินเจต่อสารสื่อประสาท γ -aminobutyric acid (GABA) ที่ให้โดยวิธีไอออนโตเฟอเรติก โดยที่ไม่มีผลเปลี่ยนแปลงการตอบสนองต่อ glycine, taurine, noradrenaline, 5-hydroxytryptamine, glutamate และ aspartate การออกฤทธิ์ของแอสจินไอเทนซิน II ต่อเซลล์ประสาทเปอร์กินเจสามารถยับยั้งได้โดย saralasin และ bicuculline ในขณะที่การออกฤทธิ์ของ GABA สามารถยับยั้งได้โดย bicuculline เท่านั้น เชื่อว่าการออกฤทธิ์ของแอสจินไอเทนซิน II ต่อเซลล์ประสาทเปอร์กินเจนั้น อาจจะผ่านทางกลไกการออกฤทธิ์ของ GABA ต่อเซลล์ประสาทเปอร์กินเจ

Thesis Title Iontophoretic Study of Angiotensin II on Cerebellar
Purkinje Cells of the Rat
Name Mr. Sanay Saganrungsirikul
Thesis Advisor Associate Professor Pavich Tongroach, Ph.D.
Interdepartment Physiology
Academic Year 1983



ABSTRACT

By means of microiontophoretic techniques, the effect of the octapeptide angiotensin II (A II) were studied on cortical Purkinje cells of the cerebellum in the rats, in which previous anatomical evidence demonstrated the presence of A II containing nerve fibers surrounding the Purkinje cell. A II depressed Purkinje cell discharge, and the peptide selectively produced enhancement of Purkinje cell response to γ -aminobutyric acid (GABA) without showing any appreciable effects on the actions of glycine (GLY), taurine (TAU), noradrenaline (NA), 5-hydroxytryptamine (5-HT), glutamate (GLU) and aspartate (ASP). Actions of A II on both Purkinje cell firing and GABA response were blocked by saralasin and bicuculline, while the action of GABA was only antagonize by bicuculline. It is suggested that A II may act on Purkinje cells via GABA mechanism.



ACKNOWLEDGEMENTS

The author wishes to express his gratitude and thanks to his advisor, Associate Professor Dr. Pavich Tongroach, the present Head of the Department of Physiology, Chulalongkorn University Faculty of Pharmaceutical Sciences, for his supervision, guidance and encouragement during the course of this study, and for kindly editing this thesis.

The author is grateful to the members of the Interprogramme Department of Physiology for accepting him as a student in the Interdepartment of Physiology.

The author would also like to express his appreciation to Assistant Professor Pongsak Kunluan of the Department of Physiology, Chulalongkorn University Faculty of Pharmaceutical Sciences, for his useful suggestion and encouragement.

The author is thankful to all staff of the Department of Physiology, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Chulalongkorn University, for providing advice and facilities used in experimental works.

Finally, the author's grateful thanks are due to Chulalongkorn University Graduate School for granting his partial financial support (of seven thousand and five hundred bath) in this study, and the author would like to extend his appreciation to his parents for their extremely useful support given to him and their encouragement.




TABLE OF CONTENTS

	Page
THAI ABSTRACT.....	iv
ENGLISH ABSTRACT.....	v
ACKNOWLEDGEMENTS.....	vi
TABLE OF CONTENTS.....	vii
LIST OF TABLES.....	x
LIST OF FIGURES.....	xi
CHAPTER	
I INTRODUCTION.....	1
II GENERAL METHODS	
Experimental animals and anaesthesia.....	12
Stereotaxic techniques.....	12
Surgical procedure.....	13
Microiontophoretic techniques.....	13
Microelectrode.....	14
Preparation of drug solutions.....	14
Filling the microelectrode.....	15
Electrode properties.....	15
Iontophoretic ejection.....	15
Spontaneous efflux and retaining current.....	16
The microiontophoretic panel.....	16
Electrophysiological technique and processing of electrophysiological data.....	18
Recording electrode.....	18
Amplification and display of unit activity	18

	Page
Processing of spike data.....	18
The criteria used to identify Purkinje cells in cerebellum.....	20
 III RESULTS	
Response of Purkinje neurones to A II administration.....	23
Effects of iontophoretic application of A II on unidentified cortical neurones (non Purkinje neurones).....	25
Effect of iontophoretic application of saralasin.....	25
Effect on the responses to iontophoretically applied A II.....	25
Effect of A II on neuronal response to putative neurotransmitters.....	28
Effect on the responses to iontophoretically applied depressant amino acids (GABA, glycine and taurine).....	28
Effect on the responses to iontophoretically applied amine neurotransmitters (NA and 5-HT).....	30
Effect on the response to iontophoretically applied excitant amino acids (glutamate and aspartate).....	33
Effect of saralasin on A II induced potentiation of GABA action.....	35


	Page
Effect on iontophoretic application of bicuculline.....	35
Effect of bicuculline on A II action...	35
Effect of bicuculline on A II produce potentiation of GABA.....	38
IV DISCUSSION AND CONCLUSION.....	41
REFERENCES.....	45
VITA.....	53



 ศูนย์วิทยทรัพยากร
 จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

LIST OF TABLES

Table		Page
1.	Substances used in microiontophoretic study.....	17
2.	Summary of iontophoretic study of A II on cortical neurons of the cerebellum.....	24



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

LIST OF FIGURES

Figure	Page
1. Photomicrograph of the cerebellum stained for A II by the immunoperoxidase technique	
A. Low power photomicrograph (x 100).....	6
B. High power photomicrograph (x 400).....	6
2. Schematic view of cerebellar folium.....	8
3. Simplified block diagram of cerebellar circuits.....	9
4. Diagrammatic representation of experimental arrangements routinely employed in this experiment.....	19
5. Maintained discharge of a Purkinje cell, recorded extracellularly.....	22
6. Effect of iontophoretic administration of A II on spontaneous firing of cerebellar neurone	
A. A II produced firing depression on Purkinje cell in a dose dependent fashion.....	26
B. Effect of A II on unidentified non-Purkinje cell.....	26
7. Effect of microiontophoretic administration of saralasin on response of Purkinje cell to microiontophoretic A II.....	27
8. Effect of microiontophoretic administration of saralasin on responses of Purkinje cell to iontophoretic application A II and GABA.....	29
9. Effect of continuous iontophoretic application of A II on depressant actions of GABA, glycine and taurine on Purkinje cell.....	31

Figure	Page
10. Effect of continuous iontophoretic application of A II on depressant action GABA and nor-adrenaline on Purkinje cell.....	32
11. Effect of continuous iontophoretic application of A II on depressant action of nor-adrenaline, GABA and 5-hydroxytryptamine on Purkinje cell.....	34
12. Effect of continuous iontophoretic application of A II on excitant action of glutamate and aspartate.....	36
13. Effect of saralasin on A II produced potentiation of GABA action.....	37
14. Effect of microiontophoretic administration of bicuculline on response of Purkinje cell to iontophoretic application A II, GABA and glycine...	39
15. Effect of bicuculline on A II produced potentiation of GABA action.....	40

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย