

Magdalena Greczek-Stachura*, Ryszard Pado*

Wpływ dopaminy na aktywność ruchową, wzrost komórki i podziały *Paramecium aurelia*

Streszczenie

Dopamina jest główną katecholaminą u jednokomórkowych organizmów eukariotycznych. Co więcej, dopamina została znaleziona w zewnątrzkomórkowym medium (Gundersen 1983). Interesującym pytaniem jest, jaką funkcję może pełnić ten hormon w fizjologii i lokomotorycznym zachowaniu *Paramecium aurelia*.

Dopamina w koncentracjach od 10^{-3} do 10^{-6} M zwiększa szybkość ruchu orzęsków do przodu w sposób zależny od koncentracji w medium inkubacyjnym. Podziały komórkowe najbardziej efektywnie hamowała dopamina w koncentracji 10^{-4} M, podczas gdy w koncentracji 10^{-6} M obserwuje się statystycznie istotne zwiększenie tempa podziałów. Dopamina stymuluje wzrost orzęsków po 1h inkubacji, po czym następuje gwałtowny spadek wielkości komórki. Rozmiary makro-nukleusa wzrastają po 1h inkubacji, w następnych dniach obserwuje się spadek wielkości jądra, jednakże nie poniżej wartości kontrolnych. Sugeruje się, że stymulacja podziałów komórkowych może wynikać z ujemnego sprzężenia receptora D_2 -dopaminowego obecnego u *Paramecium* z cyklazą adenylową.

Wstęp

Dopamina jest katecholaminą, która występuje zarówno u bezkręgowców, jak i kręgowców. Neurony zawierające dopaminę zidentyfikowano u dżdżownicy, u owadów, mięczaków (Gospe 1983). Okazało się również, że katecholaminy, a szczególnie dopamina są obecne u wiciowców *Crithidia fasciculata*, oraz orzęsków *Tetrahymena pyriformis* (Janakidevi 1966).

* Zakład Mikrobiologii Instytutu Biologii WSP w Krakowie.

W późniejszych badaniach prowadzonych przez Gundersena (1983) stwierdzono, że dopamina jest akumulowana nie tylko w komórkach pierwotniaków, ale również w zewnątrzkomórkowym medium *Tetrahymena*. Śledzono także biochemiczny aspekt biosyntezy dopaminy biorąc pod uwagę konwersję znakowanej tyrozyny i dwuhydroksyfenyloalaniny (DOPA) do dopaminy w hodowlach *Tetrahymena*.

Kaney i Knox (1980) stwierdzili, że u *Tetrahymena* nie występuje hydroksylaza tyrozyny i w związku z tym katecholaminy wykryte w komórkach pierwotniaków są syntetyzowane przez hydroksylazę tyraminy.

Funkcja amin katecholowych u pierwotniaków pozostaje wciąż interesującym zagadnieniem. Stwierdzono, że katecholaminy mogą wpływać na podziały komórkowe *Tetrahymena*, metabolizm glikogenu, syntezę RNA i aktywność cykazy adenylowej, jednakże wyniki prac z tego tematu są niezwykle trudne do powtórzenia w innych laboratoriach.

W niniejszej pracy analizowano wpływ dopaminy na tempo podziałów, wzrost komórki i makronukleusa, oraz na aktywność ruchową *Paramecium aurelia*.

Material i metody

Badania prowadzono na orzęsku *Paramecium aurelia* hodowanym na pożywce sałatowej zaszczeplonej *Enterobacter aerogenes* (wg przepisu Sonnenborna 1950). Pierwotniaki inkubowano w roztworach dopaminy (od 10^{-7} do 10^{-4} M), a następnie po 1h, 24h, 48h oraz po 5 dniach inkubacji sporządzano preparaty mikroskopowe wybarwiając komórkę i makronukleus Giemzą. Mierzono powierzchnię komórki i makronukleusa, a uzyskane wyniki przedstawiono w procentach kontroli.

Przy zastosowaniu mikroskopu stereoskopowego połączonego z kamerą TV i monitorem obserwowano zachowanie orzęsków oraz mierzono szybkość ruchu pierwotniaków inkubowanych w dopaminie (od 10^{-6} do 10^{-3} M). Zmiany przedstawiono w procentach kontroli.

Wyniki

Dopamina w koncentracjach od 10^{-4} do 10^{-7} M zmienia tempo podziałów komórkowych *Paramecium aurelia* (ryc. 1). W stężeniu 10^{-4} i 10^{-5} M dopamina silnie hamuje tempo podziałów, podczas gdy w koncentracji 10^{-6} M

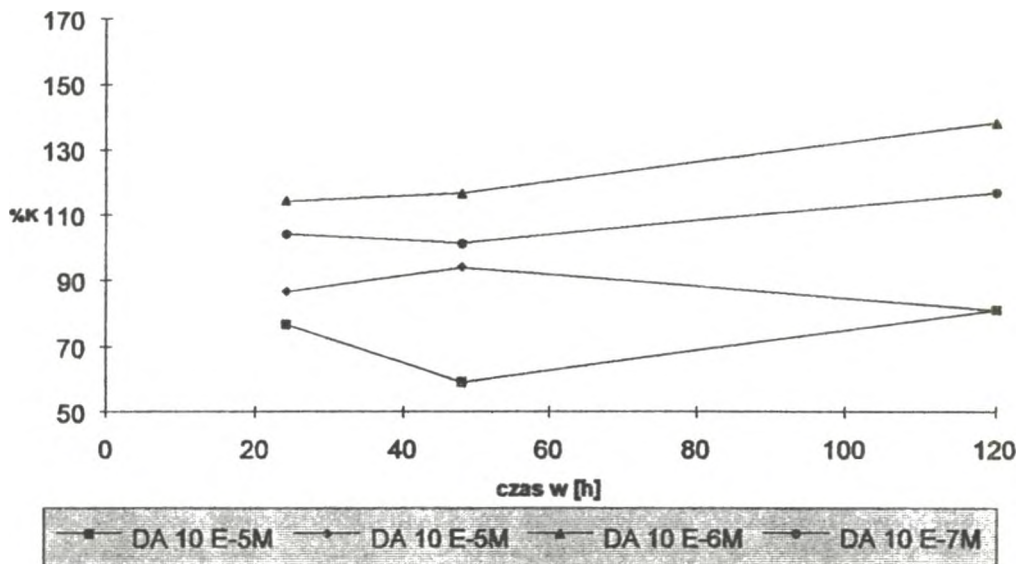
następuje przyspieszenie podziałów powyżej 100% kontroli, a w stężeniu 10^{-7} M tempo podziałów jest zbliżone do wartości z grup kontrolnych.

Określono również wielkość komórki i makronukleusa po inkubacji w dopaminie i stwierdzono silną, zależną od koncentracji stymulację rozmiarów komórki i makronukleusa po 1h inkubacji w dopaminie. W kolejnych dobach po inkubacji następuje gwałtowne (do ~60% kontroli) hamowanie wzrostu powierzchni komórki (ryc. 2). Makronukleus ulega również stopniowo zmniejszeniu, jednakże jego wielkość nie spada poniżej wartości kontrolnych (ryc. 3).

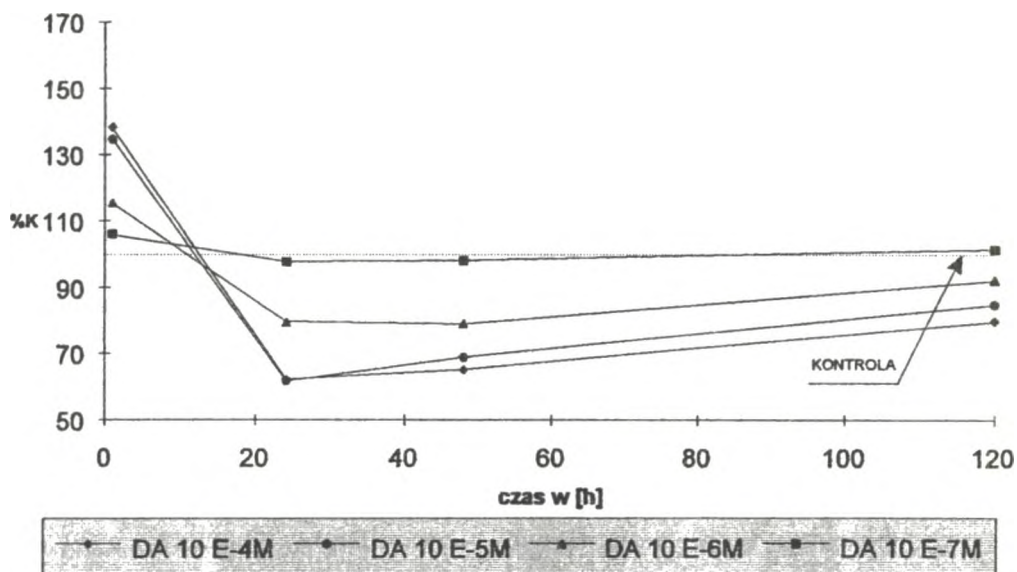
Obserwacje szybkości pływania *Paramecium aurelia* w dopaminie o stężeniach od 10^{-6} do 10^{-3} M potwierdzają, że orzęski reagują w sposób zależny od stężenia na tę katecholaminę. Najwyższa z badanych koncentracji powoduje bardzo znaczne przyspieszenie bicia rzęsek w normalnym kierunku, zwiększając w ten sposób szybkość ruchu pierwotniaków do 162% kontroli. Szybkość ta stopniowo maleje wraz ze spadkiem koncentracji dopaminy w medium inkubacyjnym, osiągając wartość 103% kontroli w stężeniu 10^{-6} M (ryc. 4).

Dyskusja

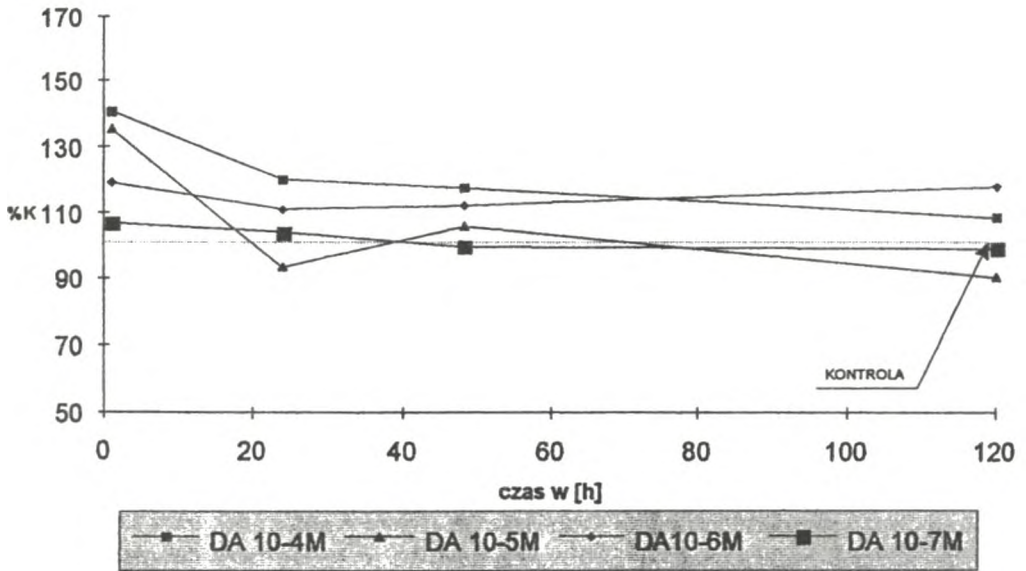
Paramecium aurelia posłużył jako model do badania reakcji komórki na egzogennie podaną dopaminę. Dopamina działa w sposób zależny od koncentracji w medium inkubacyjnym i powoduje przyspieszenie częstotliwości bicia rzęsek pierwotniaka. Związane to jest z hiperpolaryzacją błony komórkowej, który to efekt jest następstwem połączenia się dopaminy z miejscem receptorowym na powierzchni pelikuli. W podobnych koncentracjach obserwowano wpływ dopaminy i antagonisty receptorów dopaminergicznych spiperonu na fagocytozę u *Tetrahymena* (Maldonado 1987). Ponadto wpływ dopaminy na podziały komórkowe i rozmiary komórki przypomina krzywą dzwonowatego kształtu, podobną jaką obserwowano w przypadku działania enkefalin na fagocytozę u *Amoeba proteus* (Josefsson 1979), serotoniny i histaminy (Csaba 1973), oraz dopaminy na fagocytozę u *Tetrahymena* (Maldonado 1987). W pracy wykazano, że dopamina wywiera działanie stymulujące w koncentracjach fizjologicznych, ponadto efekty te związane są z obecnością w błonie komórkowej pierwotniaków receptora D_2 -dopaminowego, którego pobudzenie prowadzi do spadku cyklicznej adenylowej w komórce. Jak wiadomo obniżenie cAMP jest skorelowane z proliferacją komórki.



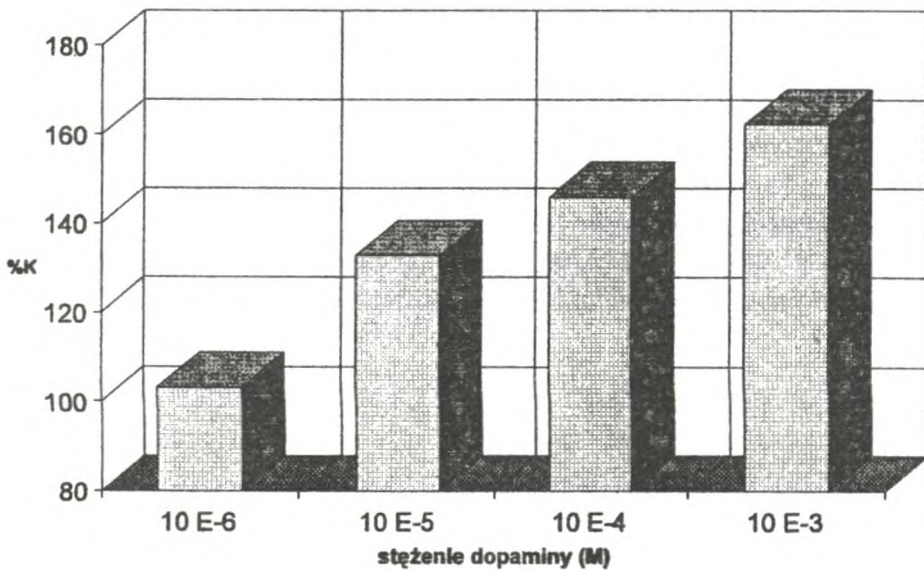
Ryc. 1. Wpływ dopaminy na podziały komórkowe *Paramecium aurelia*



Ryc. 2. Wpływ dopaminy na wielkość komórki *Paramecium aurelia*



Ryc. 3. Wpływ dopaminy na rozmiary makronukleusa *Paramecium aurelia*



Ryc. 4. Wpływ dopaminy na szybkość ruchu *Paramecium aurelia*

Wzrost wielkości komórek i makronukleusa po 1h inkubacji można tłumaczyć nasileniem syntezy białek, a potem RNA i przygotowaniem do podziału. Hamowanie wzrostu i podziałów komórkowych przez wysokie koncentracje dopaminy wynika z desensytyzacji receptorów i niespecyficznego działania dopaminy.

Niewątpliwie obecność dopaminy w komórkach pierwotniaków może sugerować jej funkcję jako cząsteczki informacyjnej mającej specyficzne znaczenie na poziomie organizmów jednokomórkowych. Dalsze badania być może pozwolą przybliżyć mechanizm funkcjonowania hormonów u pierwotniaków, oraz określić podobieństwa i różnice w stosunku do organizmów wielokomórkowych.

Literatura

- Csaba G., Lantos T., 1973, *Effect of hormones in protozoa*. Cytobiologie 7: 361–365.
- Gospe S.M., 1983, *Studies of dopamine pharmacology in molluscs*. Life Sci. 33: 1945–1957.
- Gundersen R.E., 1983, *Factors influencing the pattern of dopamine secretion in Tetrahymena pyriformis*. Biochem. Biophys. Acta. 755: 186–194.
- Janakidevi K., Devey V.C., Kidd W.G., 1966, *The biosynthesis of catecholamines in two genera of protozoa*. J. Biol. Chem. 241: 2576–2578.
- Josefsson J.O., Johanson P., 1979, *Naloxone reversible effect of opioids on pinocytosis in Amoeba proteus*. Nature. 282: 78–80.
- Kaney A.R., Knox G.W., 1980, *Production of melanin precursors by mutant of Tetrahymena thermophila*. J. Protozool. 27: 339–341.
- Maldonado V., Renaud F.L., 1987, *Effect of biogenic amines on phagocytosis in Tetrahymena thermophila*. J. Protozool. 34: 435–438.

The Effect of Dopamine on Motility, Cell Growth and Division of *Paramecium aurelia*

S u m m a r y

Dopamine is the major catecholamine in the unicellular eucaryote. Furthermore, dopamine is found in the extracellular medium (Gundersen 1983). An interesting problem is how this hormone might function in *Paramecium* physiology and locomotor behaviour.

Dopamine in concentration 10^{-3} to 10^{-6} M increased the forward swimming speed in dose-dependent manner. Cell division is inhibited the most effectively in the dopamine concentration of 10^{-4} M, whereas in the concentration of 10^{-6} M dopamine significant increase of the rate of cell division. Dopamine stimulates the increase of *Paramecium* after one hour of incubation, then there is a rapid decrease of the cell size. The size of macronucleus increase after one hour of incubation, during the following days a decrease of size of nucleus can be noticed, however not below the control. It is suggested that the stimulation of cell division can be caused by negative interaction D_2 -receptor present in *Paramecium* with a cAMP- dependent system.