

**THE FUNCTION OF D<sub>1</sub>- AND D<sub>2</sub>-DOPAMINE RECEPTORS  
IN BOVINE PINEAL GLAND**

**CHORTHIP SANTHANAVANICH**

**A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF THE  
REQUIREMENTS FOR THE DEGREE OF  
DOCTOR OF PHILOSOPHY (NEUROSCIENCES)  
FACULTY OF GRADUATE STUDIES  
MAHIDOL UNIVERSITY**

**2004**

**ISBN 974-04-4870-4**

**COPYRIGHT OF MAHIDOL UNIVERSITY**

หน้าที่ของตัวรับโดปามีนในต่อมไพเนียลของวัว

(THE FUNCTION OF D<sub>1</sub>- AND D<sub>2</sub>-DOPAMINE RECEPTORS IN BOVINE PINEAL GLAND)

ชื่อทิพย์ สันธนะวนิช 4236852 STNS/D

ปร.ด. (ประสาทวิทยาศาสตร์)

คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์: ปิยะรัตน์ โกวิททรงศ์, Ph.D., นัยพินิจ คชภักดี, Ph.D.,  
บัณฑิต เจตน์สว่าง, Ph.D.

บทคัดย่อ

การศึกษาที่ผ่านมาพบว่าตัวรับโดปามีนทั้งชนิดที่ 1 และชนิดที่ 2 ในต่อมไพเนียลวัวโดยมีปริมาณตัวรับโดปามีนชนิดที่ 1 มากกว่าตัวรับโดปามีนชนิดที่ 2 ประมาณ 26 เท่า วัตถุประสงค์ในการศึกษานี้จึงต้องการศึกษาถึง mRNA ของตัวรับโดปามีนทั้งสองชนิดและการทำหน้าที่ของตัวรับโดปามีนในต่อมไพเนียลโดยเฉพาะการสังเคราะห์เมลาโทนิน การศึกษาการแสดงออกของยีนตัวรับโดปามีนโดยวิธี RT-PCR จากการใช้คู่ primer ที่เฉพาะเจาะจงต่อการจับ mRNA พบว่าความยาวคู่เบสที่เฉพาะเจาะจงต่อตัวรับโดปามีนชนิดที่ 1 และชนิดที่ 2 คือ 231 และ 333 ตามลำดับ ผลการศึกษาพบว่า mRNA ของ ตัวรับโดปามีนทั้งสองชนิดในต่อมไพเนียล

การศึกษาผลของตัวกระตุ้นและตัวปิดกั้นตัวรับโดปามีนทั้งสองชนิดที่มีต่อการทำปฏิกิริยาของเอนไซม์ *N*-acetyltransferase ในไพเนียลโลโซทซ์ของวัวพบว่า SKF-38393 (ตัวกระตุ้นตัวรับโดปามีนชนิดที่ 1) มีผลกระตุ้นปฏิกิริยาของเอนไซม์ *N*-acetyltransferase รวมทั้งสามารถเพิ่มระดับของเมลาโทนินได้โดยที่ผลของการกระตุ้นนี้ถูกยับยั้งโดย SCH-23390 (ตัวปิดกั้นตัวรับโดปามีนชนิดที่ 1) ในขณะที่ quinpirole (ตัวกระตุ้นตัวรับโดปามีนชนิดที่ 2) มีผลยับยั้งปฏิกิริยาของเอนไซม์ *N*-acetyltransferase และการลดระดับของเมลาโทนินโดยที่ผลของมันถูกยับยั้งโดย spiperone, haloperidol, และ domperidone (ตัวปิดกั้นตัวรับโดปามีนชนิดที่ 2) ส่วนการศึกษาระดับของ cAMP (cyclic 3', 5'-adenosine monophosphate) ในไพเนียลโลโซทซ์ของวัวหลังจากใส่ยาลงในน้ำเพาะเลี้ยง 2 ชั่วโมงพบว่า cAMP ถูกกระตุ้นโดย SKF-38393 โดยที่ผลของการกระตุ้นนี้ถูกยับยั้งโดย SCH-23390 ในขณะที่ quinpirole มีผลยับยั้งปฏิกิริยาของ cAMP โดยที่ผลของมันถูกยับยั้งโดย spiperone นอกจากนี้พบว่า SKF-38393 กระตุ้นการเกิด phosphorylation ของ CREB (cAMP response element binding protein) โดยที่ผลของการกระตุ้นนี้ถูกยับยั้งโดย SCH-23390 ในขณะที่ quinpirole สามารถยับยั้งการกระตุ้นของ forskolin ต่อ การเกิด phosphorylation ของ CREB

การศึกษาครั้งนี้สามารถสรุปได้เป็นครั้งแรกว่าโดปามีนในต่อมไพเนียลของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมมีผลโดยตรงต่อการกระตุ้นเอนไซม์ *N*-acetyltransferase และการเพิ่มระดับของเมลาโทนินจากการกระตุ้นของตัวรับโดปามีนชนิดที่ 1 รวมทั้งมีผลเช่นเดียวกันกับนอร์อิพิเนฟรินในการกระตุ้น phosphorylation ของ CREB และการสร้างเมลาโทนินในต่อมไพเนียลผ่านทางกลไกการถอดรหัสในนิวเคลียส อย่างไรก็ตามเส้นใยประสาทของโดปามีนและตำแหน่งเฉพาะที่ของโดปามีนในต่อมไพเนียลนั้นจะต้องทำการศึกษาวิเคราะห์ต่อไป

**THE FUNCTION OF D<sub>1</sub>- AND D<sub>2</sub>-DOPAMINE RECEPTORS IN BOVINE PINEAL GLAND**

CHORTHIP SANTANAVANICH 4236852 STNS/D

Ph.D. (NEUROSCIENCES)

THESIS ADVISORS : PIYARAT GOVITRAPONG, Ph.D.,  
NAIPHINICH KOTCHABHAKDI, Ph.D., BANTHIT CHETSAWANG, Ph.D.**ABSTRACT**

Previous studies from this laboratory have identified and characterized D<sub>1</sub>- and D<sub>2</sub>-dopamine receptors in bovine pineal glands. The data indicated a density of D<sub>1</sub>-dopamine receptors (974 fmol/mg protein) far exceeding that of D<sub>2</sub>-dopamine receptors (37 fmol/mg protein). The purpose of this research is to identify the mRNA for both D<sub>1</sub>- and D<sub>2</sub>-dopamine receptors and to elucidate the status of dopamine and its possible involvement in the pineal function, particularly on melatonin synthesis. The expression of these dopamine receptor subtypes was determined by using a reverse transcriptase-polymerase chain reaction technique with specific pairs of primers to amplify D<sub>1</sub>- and D<sub>2</sub>-dopamine receptor mRNA. Amplification of RNA from a bovine striatum (positive control) and a bovine pineal gland resulted in products of the predicted lengths of 231 base pairs for D<sub>1</sub>- and 333 base pairs for D<sub>2</sub>-dopamine receptors. The results indicated that mRNA from both D<sub>1</sub>- and D<sub>2</sub>-dopamine receptors is present in the bovine pineal gland. The role of dopamine receptors was investigated by studying the effects of selective D<sub>1</sub>- and D<sub>2</sub>-dopamine agonists and antagonists on the *N*-acetyltransferase activity of cultured bovine pinealocytes.

The data showed that SKF-38393 (a selective D<sub>1</sub>-agonist) enhances *N*-acetyltransferase activity and increases the melatonin level and its stimulatory effect is blocked by SCH-23390 (a D<sub>1</sub>-selective antagonist). On the other hand, quinpirole (a selective D<sub>2</sub>-agonist) was found to inhibit *N*-acetyltransferase activity and decrease the melatonin level, and its inhibitory effect was found to be blocked by spiperone, haloperidol, and domperidone (D<sub>2</sub>-selective antagonists). The level of cyclic 3', 5'-adenosine monophosphate was enhanced after a two-hour incubation of bovine pinealocytes with SKF-38393 and inhibited after incubation with quinpirole, while the effect of each was blocked by SCH-23390 and spiperone, respectively. Regarding phosphorylation, it was found that either SKF-38393 or forskolin enhances the phosphorylation of cyclic 3', 5'-adenosine monophosphate responsive element-binding protein, while their effects are inhibited by SCH-23390 and quinpirole, respectively.

In conclusion, this study directly demonstrates for the first time that, in the mammalian pineal gland, dopamine enhances the melatonin level by stimulating *N*-acetyltransferase activity by means of the D<sub>1</sub>-dopamine receptor. In the bovine pineal gland I also found dopamine-dependent phosphorylation of the transcription factor of cyclic 3', 5'-adenosine monophosphate responsive element-binding protein, such as norepinephrine. However, the presence of dopamine containing fibers and the localization of specific dopamine receptors in the pineal gland need to be further elucidated.

**KEY WORDS : DOPAMINE RECEPTOR / *N*-ACETYLTRANSFERASE / CYCLIC  
3', 5' ADENOSINE MONOPHOSPHATE / MELATONIN**

178 pp. ISBN 974-04-4870-4