

6- HİDROKSİDOPAMİN (6-OH-DA)'İN FAREDE BEYİN KATEKOLAMİNLERİNE VE DAVRANIŞA ETKİLER (x)

Dr. İsmail H. ULUS **

Dr. Burhan K. KIRAN ***

ÖZET

Farede intraventriküler olarak beyin-omurilik sıvısına zerk edilen çeşitli dozdaki 6-OH-DA'ın beyin katekolaminlerine ve davranışa etkileri incelendi. Hayvanlar 50 gün süre ile gözlem altında tutuldular. Katekolinler fluorometrik olarak tayin edildi. Küçük doz 6-OH-DA verilmesinden sonra beyin noradrenalin (NA) miktarlarındaki azalma dopamin (DA) miktarlarındaki azalmadan daha belirgin idi. Yüksek doz 6-OH-DA zerki ise NA ve DA seviyelerinde ileri derecede ve eşit azalmaya sebep oldu. Zerki takip eden günlerde 6-OH-DA dozuna bağlı olarak farelerde saldırganlık artışı, iritabilite, dokunma ve sese karşı hassasiyet gibi bazı davranış değişimleri görüldü. Zerki takip eden ilk 1-2 saat içinde aktivite artışı ve yüksek dozlarda konvülsiyonlar ve bunlara bağlı ölümler oldu. Gözlem sürecinde beyin katekolaminlerindeki azalmalar geridönmediği gibi davranış değişimlerinde de bir değişme olmadı.

SUMMARY

The effects of 6-hydroxydopamine (6-OH-DA) on the brain catecholamines and behaviour in mice.

Five doses (10, 25, 50, 100 and 250 ug) 6-OH-DA were injected intraventricularly to the CSF in mice. The animals observed for 50 days after injection. Brain Catecholamines, noradrenaline (NA) and dopamine (DA), determined spectrophotofluorometrically various days after 6-OH-DA administration. In small doses NA depletion was higher than DA depletion. However, brain NA and DA levels were found 27 and 23 per cent of control 20 days after 250 ug 6-OH-DA injection. In observation period we saw some behavioral changes, such as aggressivity, irritability and supersensitivity to tactil and auditory stimuli. We observed piloerection, hyperactivity, convulsions and death (especialy after high doses) immediatly after the 6-OH-DA administration. Behavioral changes and brain catecholamine levels didn't return to control values in observation period.

* Çalışma Ank. Üniv. Tıp Fak. Farmakoloji Enst. yapılmıştır.

** Bursa Tıp Fakültesi, Farmakoloji ve Klinik Farmakoloji Kürsü As.

*** Bursa Tıp Fakültesi, Farmakoloji ve Klinik Farma.

Kürsü Başkanı

Intraventriküler olarak beyin-omurilik sıvısına zerk edilen 6-OH-DA sıçan beyninde NA ve DA miktarlarında azalmaya, bu aminlerin sentezinde rolü olan enzimlerin aktivitesinde düşmeye ve aminlerin tutulma sahalarında kayba sebep olur (1). Elektron mikropkop çalışmaları bu maddenin beyin katekolamin nöronlarında geri dönmeyen olaylara yol açtığını göstermiştir (2).

Katekolamin nöronlarındaki bu etkileri nedeniyle, bu nöronlarla ilgili bazı fizyolojik görevlerin incelenmesinde veya etki mekanizmalarında merkezi NA ve DA'nın rolü olduğu düşünülen ilaçlarla yapılan araştırmalarda 6-OH-DA çok kullanılan bir test maddesi olmuştur (3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11).

Bu maddenin sıçan beyninde katekolamin nöronlarındaki ve davranış üzerindeki etkileri çok iyi bilinmektedir (12). Biz bu çalışmada çok kullanılan diğer bir laboratuvar hayvanı farede bu maddenin etkilerini inceledik ve sonuçları sıçanlardakilerle karşılaştırdık.

MATERYAL VE METOD

Deneyde 20-30 g ağırlığında beyaz erkek fareler kullanıldı. Gıda ve su alımı serbest tutuldu. Hayvanlar 12 saat aydınlık 12 saat karanlık olacak şekilde ışıkları ayarlanmış bir odada ve 12-15 fare bir kafeste olacak şekilde muhafaza edildiler.

Intraventriküler injeksiyonlar hafif eter anestezisi altında solyan ventriküle Britain'e (13) göre yapıldı. Beş doz (10, 25, 50, 100, 250 ug) 6-OH-DA HBr 1 mg / ml askorbik asid ihtiva eden fizyolojik tuzlu su içinde eritildi ve sabit hacim (10 ul) içinde ventriküle zerk edildi. Kontrol hayvanlar aynı şartlar altında ve aynı hacimde kontrol solüsyonu aldılar.

NA ve DA tayinleri için fareler zerikten sonra muhtelif zamanlarda öldürüldüler ve beyinleri süratle çıkarılarak 20 ml 0.4 N perklorik asid içinde homojenize edildiler. Homojenattaki katekolaminler aliminyum oksid ile ekstrakte edilerek (14) fluorometrik olarak tayin edildiler (14, 15)

SONUÇLAR

A-6-OH-DA'in beyin NA ve DA miktarlarına etkisi : Metoda belirtildiği şekilde sol-yan ventriküle zerk edilen muhtelif dozdaki 6-OH-DA'in beyin katekolaminlerine etkisi Tablo-I de özetlenmiştir. Belirtilen bütün dozlarda meyın NA ve DA miktarlarının da anlamlı düşmeler olmuştur. Bununla beraber 4.gün yapılan tayinlerde etki ile doz arasında tam bir paralellik yoktu Bak Tablo 1

50 ug 6-OH-DA almış fareler 50 gün, 250 ug 6-OH-DA almış fareler ise 20 gün takip edildiler. Tablo-2 de bu süreler içinde yapılan tayinlere ait sonuçlar gösterilmiştir. Bu uzun süre içinde katekolamin miktarlarındaki azalmanın geri dönmediği görülmektedir. Bak Tablo 2

B-Davranış değişmeleri : Yüksek dozda (100 ve 250 ug)6-OH - DA zerkini takiben hayvanlarda bir hiperaktivite hali piloereksiyon durumu vardı. Bu guruptaki farelerde sıklıkla konvülsiyon ve bu tablo altında ölümler görüldü. 250 ug 6-OH-DA almış 28 fare - den 17 si, 100 ug almış 28 fareden 5 'i zerkten sonraki ilk iki saat içinde öldü. Düşük doz verilmiş farelerde de bir aktivite artışı olmakla beraber ölüm görülmedi. Zerki takip eden günlerde, bütün dozlarda, hayvanlarda dış stimuluslara (dokunma ve gürültü gibi) karşı aşırı bir duyarlılık hali ve saldırganlık hali vardı. Bu tür davranış değişmeleri, giderek daha az belirgin olmasına rağmen, 50.günde dahi devam ediyordu.

TARTIŞMA

Elde ettiğimiz sonuçlara göre düşük doz 6-OH-DA zerkinden sonra fare beyin NA seviyelerindeki azalmanın DA seviyelerinden fazla olmaktadır. 50 ug 6-OH-DA'den sonra beyin NA seviyesi kontrollerin % 40'ı DA seviyeleri ise %69'u olarak bulunmuştur. Yüksek dozlardan sonra ise DA ve NA miktarlarındaki düşme daha ileri derecede ve yaklaşık bulunmuştur. Sıçanlarda yapılan çalışmalarda da aynı ilişki tespit edilmiştir (I). Bu duyarlılık farkının 6-OH-DA'in NA nöronlarına olan afinitesinin DA nöronlarından daha yüksek olması ile izah edilmiştir (I, I6). Beyin katekola -

Tablo - I : Muhtelif doz 6-OH-DA'in beyin NA ve DA miktarlarına etkisi . 4. gün tespit edilen değerler ; ortalama \pm S. H. olarak ifade edilmiştir. Parantez içindeki rakamlar deney sayısını göstermektedir.

6-OH-DA ug	Noradrenalin		Dopamin	
	ng / g	% Kon.	ng/g	% Kont.
Normal .	359- 12 (4)	100 - 3	850- 64 (4)	100 - 6
Kontrol	378- 22 (11)	105- 6	853- 63 (11)	100 - 8
10.....	205 - 17 (4)	57 - 5 a	499 - 113 (4)	59- 12 d
25.....	121 - 19 (4)	34 - 5 a	512 - 79 (4)	61 - 9 c
50.....	128 - 57 (4)	36 - 16 b	606 -108 (4)	71 - 13 e
100	199 -23 (4)	56 - 8 a	687 - 140 (4)	83 - 22 f
250	191 - 30 (4)	54 - 8 a	465 - 62 (4)	58 - a

Normal : Hiç bir tedavi yapılmamış farelerin normal beyin NA ve DA miktarları.

Kontrol : Intraventriküler olarak kontrol solusyonu almış fareler.

a : $p < 0.0005$, b : $p < 0.0025$, c : $p < 0.005$, d : $p < 0.01$, e : $p < 0.05$, f : $p < 0.25$.

Tablo : 2 : 50 ve 250 ug 6-OH-DA zerkinden sonra muhtelif zamanlarda öldürülen farelerde beyin NA ve DA seviyeleri. Değerler 4 deneyin ortalaması - S.H. olarak ifade edilmiştir.

	Noradrenalin		Dopamin	
	ng / g	% K	ng / g	% K
<u>50 ug 6- OHDA</u>				
4. gün	128 ± 57	36 ± 16	606 ± 108	71 ± 13
12. gün	139 ± 25	39 ± 7	504 ± 137	59 ± 16
20. gün	151 ± 26	40 ± 7	587 ± 34	69 ± 4
50. gün	102 ± 27	29 ± 8	454 ± 64	53 ± 8
<u>50 ug 6-OH-DA</u>				
4. gün	191 ± 30	54 ± 9	465 ± 62	55 ± 7
20. gün	81 ± 12	23 ± 3 ^a	160 ± 56	19 ± 7 ^a

a : $p < 0.01$ (4.gün ve 20.gün arasındaki değerler karşılaştırıldığında).

minlerindeki azalma 50.gün dahi devam ediyordu. Bu hususta yine daha önce sıçanlarda gösterilmiştir (I, I6).

Dördüncü gün yapılan tayinlerde beyin katekolaminlerindeki azalma ile kullanılan 6-OH-DA dozu arasında bir paralellik olduğu görülmektedir (tablo-I). Oysaki 20.gün yapılan tayinlere ait sonuçlarda doz-cevap ilişkisi daha açık görülmektedir. Bu durum muhtemelen 6-OH-DA etkisinin 4.günde henüz tamamlanmamış olmasından olabilir. Sıçanlarda elektron mikroskopu ile yapılan çalışmalarda kalıcı sabit etkinin 5-7 günde tamamlandığını ve buna bağlı sabit kimyasal sonuçların bir haftadan sonra oluştuğu bildirilmiştir (2). Benzer sonuçlar histokimyasal metodlarla da tespit edilmiştir (I7).

6-OH-DA'den sonra farede meydana gelen davranış değişimleri sıçanlarda da gösterilmiştir (I, 3, 4, 7, I8). Bu davranış değişmelerinin sıçanlarda olduğu gibi (7) kalıcı ve geri dönmediği görülmektedir.

Bizim burada sunduğumuz sonuçlar literatürdeki bilgiler ile karşılaştırılırsa görülmektedir ki ; intraventriküler olarak beyne zerk edilen 6-OH-DA maddesi fare ve sıçanda aynı biokimyasal etkileri ve benzer davranış değişmelerini meydana getirmektedir. Bu husus, sıçan ve farede bazı davranışların beyin katekolaminleri ile ilgili olduğunu telkin edebilir. Ayrıca, beyin katekolaminleri aracılığı ile olduğu bildirilen bazı görevlerin araştırılmasında 6-OH-DA, sıçanda olduğu gibi farede de, iyi bir test maddesi olabilir. Bunun da ötesinde, fare ve sıçanda farklı bir takım etkiler meydana getiren bazı ilaçların her iki hayvandaki etkilerinin incelenmesinde ve farklılığın anlaşılmasında 6-OH-DA oldukça önemli yararlar sağlayabilir.

KAYNAKLAR

- 1- Iversen, L. L., Uretsky, N. J. :Biochemicals effects of 6-hydroxydopamine on catecholamine containing neurones in the rat central nervous system. 6-Hydroxydopamine and catecholamine neurons, Editörler : Malmfors, T., Thoenen, H., North-Holland Publishing Company, Amsterdam-London, 1971'de sayfa : 171.
- 2- Bloom, F. E. : Fine structural changes in rat brain after intracisternal injection of 6-Hydroxydopamine. Aynı eser, sayfa : 135.
- 3- Evetts, K. D., Uretsky, N. J., Iversen, L. L., Iversen, S. D. :Effects of 6-Hydroxydopamine on CNS catecholamines, spontaneous motor activity and amphetamine induced hyperactivity in rats. Nature, 225 : 961, 1970.
- 4- Ulus, İ. H., Kıran, B. K. :Amfetaminin sıçanda meydana getirdiği motor aktivite artışına 6-hidroksidopamin ve L-DOPA'ın etkileri. Ank. Üniv. Tıp Fak. Mec. 24 : 1060, 1971.
- 5- Ayhan, İ. H. :Effects of 6-hydroxydopamine en morphine analgesia. Psychopharmacologia (Berl.), 25 : 183, 1972.
- 6- Nakamura, K., Thoenen, H. :Hypothermia induced by intraventricular administration of 6-hydroxydopamine in rats. European J. Pharmacol. 16 : 46, 1971.
- 7- Nakamura, K., Thoenen, H. :Increased irritability :A permanent behaviour change induced in rat by intraventricular administration of 6-hydroxydopamine. Psychopharmacologia (Berl.), 24 : 484, 1972.
- 8- Simmonds, M. A., Uretsky, N. J. :Central effects of 6-hydroxydopamine on the body temperature of the rat. Br. J. Pharmacol. 40 : 630, 1970.
- 9- Uretsky, N. J., Schonfeld, R. I. : Effect of L-DOPA on the locomotor activity of rats pretreated with 6-hydroxydopamine. Nature (New Biology), 234 : 157, 1971.
- 10- Breese, G. R., Moore, R. A., Howard, J. L. :Central actions of 6-hydroxydopamine and other phenylethylamine derivatives on body temperature in the rat. J. Pharmacol. Exp. Ther. 180 : 591, 1972.
- 11- Tulunay, F. C., Kıran, B. K., Kaymakçalan, Ş. : The effect of 6-hydroxydopamine on morphine abstinence syndrome in rats. Acta Medica Turcica, 8 : 45, 1971.
- 12- Malmfors, T., Thoenen, H. :6-Hydroxydopamine and catecholamine neurons. North-Holland Publishing Company, Amsterdam-London, 1971.
- 13- Brittain, R. T. :The intracerebral effect of noradrenaline and its modification by drugs in the mouse. J. Pharm. Pharmacol. 18 : 621, 1966.
- 14- Anton, A. H., Sayre, D. F. :A study of the factors affecting the aluminum oxide-trihydroxyindole procedure for the analysis of catecholamines. J. Pharmacol. Exp. Ther. 138 : 360, 1962.

- 15-Anton, A.H., Sayre, D.F. : The distribution of dopamine and dopa in various animals and a method for their determination in diverse biological material. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 145 : 326, 1964.
- 16-Breese, G.R., Traylor, T.D. : Effect of 6-hydroxydopamine on brain norepinephrine and dopamine : Evidence for selective degeneration of catecholamine neurons. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 174 : 413, 1970.
- 17-Ungerstedt, U. : Históchemical studies on the effect of intracerebral and intraventricular injections of 6-hydroxydopamine on monoamine neurons, editörler : Malmfors, T., Thoenen, H., North-Holland Publishing Company, Amsterdam-London, 1971'de sayfa : 101.
- 18-Jacks, B.R., De Camplain, J., Cordeau, J.P. : Effects of 6-hydroxydopamine on putative transmitter substance in the central nervous system. *European J. Pharmacol.* 18 : 353, 1972.