

ALKOL-PROSTAGLADİN ETKİLEŞİMİNİN OPEN-FIELD TEKNİĞİYLE DAVRANIŞ PARAMETRELERİNDE İNCELENMESİ

Dr. M. Nejat GACAR (x)

Dr. Hasan GACAR (xx)

ÖZET:

Yapılan çalışmalar. Open-field tekniğinin Alkol yoksunluğu sendromunun gözlenmesinde kolay ve güvenilir bir yol olduğunu göstermektedir. Bizde bu çalışmamızda Kronik alkolik (KA) ve yoksunluktaki (Y) sıçamlara PG-sentez inhibitörü asetil salisilik asid (ASA) vererek davranışlarındaki farklılıkları bu teknikle incelemeyi uygun bulduk. Locomotion, Exploration, Rearing ve Grooming gibi parametrelere yanı sıra Emossyonoliteyide göz önünde bulundurduk. Gruplar arasındaki farklılıkların önemi-standart hatalarıyla birlikte değerlendirildi. Sonuçların bu değerlendirilmesinde student t testi kullanıldı.

GİRİŞ:

Bu gün için alkolün terapötik önemi hemen hemen yok denecek kadar azdır, fakat alkollü içecekler halinde kullanılması oldukça yaygındır. Önceleri az miktarda alınan alkol eğer doz arttırılarak kullanılırsa kronik alkolizmin gelişmesine yol açar. Kişi yer ve zaman kavramı düşünmeksizin içer, rutin işlerini ve sorumluluklarını aksatmaya başlar. Kronik alkolizm geliştikten sonra ise alkolden uzak kalmak bireylerin yoksunluğa (Abstinence) girmelerine neden olmaktadır. Bu sendrom belirgin ruhi ve somatik hipereksitasyon ile kendini gösterir. Alkolizmin tedavisi için yoksunluk semptomlarını çok iyi bilmek gerektiğinden, bu yönlü çalışmaların insan üzerinde yapılamayacağı ortadadır. Hayvan modellerine olan gereksinim buradan kaynaklanmaktadır. deney hayvanlarına alkol dumanlarının inhalasyonu (1,2), periton içine injeksiyon (1,3) mide tübü (4,5,6) ve sıvı diyet (8,9,10) yoluyla alkol uygulanmakta ve deneysel kronik alkolizm oluşturulmaktadır. Daha sonrada normal denekler, alkolik denekler ve yoksunluğa sokulmuş deneklerin davranışları ve bu deneklerde çeşitli ilaçların etkileri farklı tekniklerle gözlemlenil-

(x) Atatürk Üniv. Tıp Fak. Farmakoloji Anabilim dalı mütehasısı

(xx) " " " " " " " " yöneticisi Prof.Dr.

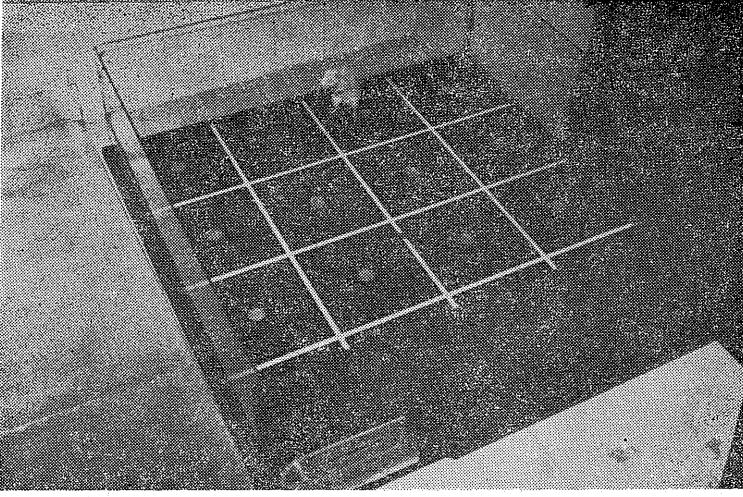
metedir. İşte open-field (açık alan) tekniği bize aşağıdaki parametreleri değerlendirmek suretiyle davranış ların incelenmesi imkanını sağlayan bir yöntemdir. Bu teknikte genellik ile locomotion (hareket), Exploration (araştırmacılık), Rearing (dikilme), ve grooming (taranma) gibi davranışlar gözlemlenmektedir. Normalde hayvanlar küçük bir kafese kapatıldıklarında davranışları genellikle kısa bir süre için sınırlı çevreyi araştırmak, taranmak daha sonra ise oturmak yada uyumak şeklindedir. Open-field (açık alan) tekniğinde ise hayvanlar en az bir saat süreyle oturmada uyuma eğiliminde bulunmazlar (7). Capaz ve ark. da alkol yoksunluğu sendromunun gösterilmesinde açık alan tekniğinin basit ve güvenilir bir yol olduğunu bildirmektedirler. Bu tekniği seçmelerine neden olarakta aygıtın basitliğini ve açıkça belirlenmiş davranışların-kolay ve hızlı ölçümünü göstermektedirler (8).

Diğer taraftan Alkol ve PG'ler güncellikleri yanısıra farmakolojik etki kalıpları yönünden de bazı benzerlikler göstermektedirler. Buna örnek olarak vazodilatör, diüretik ve sedatif etkilerini verebiliriz. Çeşitli fizyolojik ve patolojik olaylarda bu iki maddenin arasında bir etkileşimin var olabileceğini düşündürmektedir. Ayrıca nikotin (11), tetrahidrokannabinol (12), ve alkol (13,14) gibi sıklıkla kötüye kullanılan maddelerinde PG benzeri aktiviteyi etkiledikleri bilinmektedir. Endojen madde düzeylerinin alkol ile etkileşiminin davranış üzerinde de çeşitli değişiklikler ortaya çıkaracağı muhakkaktır. Bu nedenle bizde alkol-PG etkileşiminin davranış üzerindeki etkilerini açık alan tekniğiyle incelemeyi uygun bulduk.

ARAÇ, GEREÇ VE YÖNTEM:

Davranış le ilgili parametrelerin incelenmesinde Anabilim dalımız, deney hayvanı yetiştirme birimi kaynaklı 120 sıhatli erkek albino sıçan kullanıldı. 60 denekten meydana gelen birinci grubun normal davranışları tespit edilip kontrol olarak kabul edildi. Diğer denekler 30'arlı iki gruba ayrıldı ve her iki gruba da içme suları içerisinde v/v şeklinde 5 ten % 25'e kadar yükselen dozlarda etil alkol verildi. Gruplardan birine alkol uygulaması yanısıra denek başına 2mg ASA (PG sentez inhibitörü) içeceklerinde çözündürülüp verildi. Böylece kronik alkolik(KA) ve ASA alan kronik alkolik (KA+ASA) gruplar üç ay sürede hazırlandı. Daha sonra her üç grup (intakt, KA,KA+ASA) onar dakikalık teste tabi tutuldular. yaklaşık on beş günsonra KA ve KA+ASA grupları yoksunluğa bırakıldılar. 105 gün içerisinde mortalite nedeni ile denek sayısının düşmesi ve deneklerin test ortamına alışmalarını önelemek amacıyla 24 ile 72 saatlik yoksunluklara bakılmadı, sadece 48 saatlik yoksunluk gözlemlendi. Gruplar arasındaki farklılığın önemi student t testiyle analiz edildi.

Open-field tekniğinde kullanılan aygıt evvelce tanımladığı gibi (7) 1x1 boyutlarında ve 16 eşit kareye bölünerek hazırlandı. Her bir karenin ortasına 3.5 cm çapında muntazam delikler açıldı. Zemin kahverengi, kareleri ayıran çizgiler ise



Resim 1- Davranış parametrelerinin incelendiği Open-field aygıtı ve rearing pozisyonunda kronik alkolik (KA) bir denek.

beyaz renkte boyandı. Aygıtın üç tarafı 30 cm yüksekliğinde ve 1 metre uzunluğunda 5 mm'lik cam ile çevrildi. Girişin bulunduğu yön ise camlarla aynı ebatta suntuadan yapıldı. Aktivite deneklerin geçtikleri kare sayısı ile, araştırmacıları kokladıkları delik sayısı ile, emosyonolite dışkı sayısı ile değerlendirildi. Ayrıca yükselme (rearing), taranma (grooming) gibi davranış paramereleri ile dikkati çeken veya normalde gözlenmeyen davranışlarında değerlendirildi. Rektal temperatürleri ve vücut ağırlıkları araştırmanın devam ettiği dört ay boyunca sürekli takip edildi. Neticede in vivo çalışmalar locomation, expolaration, rearing, grooming, emosyonolite, rektal temperatür, vücut ağırlığı gibi 7 parametre üzerinde değerlendirildi.

BULGULAR:

Normal deneklerde alışılmışın dışında her hangi bir davranışla karşılaşılma. % 5 alkol uygulaması sonunda denekler teste alındığında hareketleri intakt deneklerden fazla farklı değildi. Sadece tek bir denekte jumping (sıçrama) gözlemlendi. % 10'luk uygulamayı takiben ise deneklerde bariz sedasyon dikkati çekmekteydi. Test harici gözlemlerde deneklerin kafes tellerine eskisi gibi tırmanarak çıkmadıkları, sıçrayıp tutundukları görüldü. 15 alkol uygulanmasında sadece bir denekteki ajitasyon haricinde farklılık gözlenmedi. % 20 alkol uygulanmasını takiben deneklerin çoğunda piloereksiyon ve pitozis görüldü. üç denekte ataksi ve depresyon dikkati çekti. % 25 alkol uygulanmasında ise deneklerin bariz depresyona girdikleri ve hemen hepsinde pitozis ve piloerksiyon geliştiği görüldü.

Alkol+ASA alan grupta da bariz bir sedasyon gözlenmesine rağmen bu grubun hareketlerinin sadece alkol alan gruba göre daha sert olduğu dikkati çekti. Bu iki grup arasındaki en önemli farklılık ise alkol+ASA olan grupta üçüncü

günden itibaren bariz denge bozukluğu ve yıkılmaların meydana gelmesiydi. ASA ile birlikte alkol alan grupta % 15 lik uygulamadan sonra deneklerde kuyruk sertleşmesi dikkati çekti. Gerek KA gerekse KA+ASA gruplarında sese duyarlılığın kontrol gruplarına göre daha fazla olduğu tesbit edildi. Araştırmacılığın çok yüksek olmasına karşılık % 15 KA+ASA alan grup genellikle geçtikleri karelerin hepsini koklayıp, köşeleri araştırma eğilimin deydiler. KA+ASA uygulaması % 20 ve üstündeki düzeylere çıktığında yaygın bir depresyon ve mortalitede artma oldu. Bu düzeylerde tüm deneklerde pitozis ve piloereksiyon görüldü. Yoksunluk-taki deneklerde ise hemen hepsinde sürekli koklama, tedirginlik, piloereksiyon, sese tepki, müdafa pozisyonu ve ajitasyon görüldü. Tek bir denekte ise üç dakikalık katatoniyeye benzer durum görüldü. Tüm deneklerde kuyruk sertleşmesi göze çarpmaktaydı.

Y+ASA grubundaki pek çok davranış Y grubundakilere benzerlik gösterirken farklı birkaç nokta dikkatimizi çekti. ASA alan gruptaki tüm deneklerin eşinme hareketi, taşipne ve test süresince bir veya birkaç kez idrar yapmalar diğer gruptan farklı olan davranışlarıydı.

KA denekler intakt deneklerle karşılaştırıldığında vücut ağırlıklarının ve rektal temperatürlerinin düşüş olduğu görüldü. Tüm test sonuçları gruplar arası farklılıkların önemlilikleriyle tablo 1 de görülmektedir.

KA deneklerin dışkılamalarında intakt deneklere göre düşüş gösterdiği gözlemlendi. Diğer parametrelerinde sayısal değerleri düştü. İntakt grup ile Y grubu arasındaki karşılaştırmada ise vücut ağırlığında, emosyonolitede, araştırmacılıkta intakt deneklere göre yükselme gözlemlenirken, rektal temperatür, hareket, yükselme ve taranma parametrelerinde oldukça önemli düşüşler gözlenmiştir. KA ve Y gruplarının karşılaştırılmasında da gözlenen tüm parametrelerde Y denekleri lehine artışlar ortaya çıkmıştır. KA grup ile KA+ASA grubu karşılaştırıldığında KA grubundahaaktif $p < 0.60$) ve yükselme frekansının sayısal değerinin de daha fazla olduğu görülmüştür. Tüm parametrelerde biyoistatistiki yönden bir önemlilik görülmemiştir. Yalnız hareket ve yükselme parametreleri dışındaki gözlemlerin sayısal değerleri KA+ASA grubunun lehinde saptanmıştır. Buna karşılık KA+ASA grubunun intakt deneklerle karşılaştırılmasında ise tüm parametrelerde intakt deneklere göre yüksek düşüşler göze çarpmıştır. Aynı durum ile intakt deneklerle, Y+ASA grubunun farklılıklarının incelenmesinde de karşılaşılmıştır. KA+ASA grubu ile Y+ASA grubunun karşılaştırılmasında da hareket ve yükselme parametreleri haricinde Y+ASA grubunun sayısal değerleri daha yüksek bulundu. Bunun yanı sıra KA ie Y gruplarının karşılaştırılmasında hareket ve yükselme parametreleride dahil tüm parametrelerde yoksunluk grubu, alkolik gruptan daha yüksek sayısal değerlere sahipti ki buda beklenen bir neticeydi.

Davranış parametrelerinin incelendiği bu çalışmada son olarak Y grubu ile Y+ASA grubunun karşılaştırılması yapıldı. Vücut ağırlığı ve rektal tempera-

türlerin değerlendirilmesinde, ASA uygulanan grupların intakt deneklerinin söz konusu parametrelerinin diğer intakt deneklere göre yüksek olduğunun göz önün de bulundurulması gerekmektedir. Diğer parametrelerin tümünde ise ASA alan yoksunluk deneklerinin davranışlarının, sadece yoksunlukta olanlara göre baskı altında olduğu açıkça görülmektedir (tablo 1).

TARTIŞMA:

Bilindiği gibi santral merkezler üzerine etkili olan nikotin (11), THC (12), alkol (13,14) gibi maddeler organizmada çeşitli dokularda PG benzeri aktivitede değişiklikler meydana getirmektedir. Kronik alkol uygulanan sıçanların beyin, karaciğer ve serumlarında PGE2 benzeri aktivitenin incelendiği çalışmada, kontrol değerlere göre beyinde anlamlı bir azalma ($p < 0.001$), serumda anlamlı ($p < 0.001$) karaciğerde anlamsız ($p < 0.2$) bir yükselme tespit edilmiştir (13). Diğer bir çalışmada alkol ile ASA uygulanan deneklerin beyinlerinde, alkolün sebep olduğu PGE2 benzeri aktivite düşüşünün çok dana fazlalığı yani alkol ile ASA'nın beyinde PGE 2 benzeri aktivite üzerinde aynı yönlü etki yaptığı bildirilmiştir (15).

Ahtee. L ve ark. kronik alkol uygulanan sıçanların kalp ve beyinlerinde noradrenalin (NA) ve dopamin (DA) konsantrasyonlarını (4), Bacopoulos ve ark. santral nöronlardaki DA aktivitesini (16), Tabakoff ve ark. beyin serotonin metabolizmasına alkolün etkisini (3), Yamaka ve ark. ise alkolik farelerde beyin katekolamin turnover'ını incelemişlerdir (9). Neticede bu çalışmalar ve benzerleri alkolün beyindeki çeşitli endojen maddelerin düzeylerinde değişiklikler meydana getirebileceğini göstermiştir. Beyindeki endojen maddelerin düzeylerindeki değişikliklerinde davranışlarda değişiklik oluşturacağı ortadadır. Deneklerin davranışları incelendiğinde, aktivitenin göstergesi olan hareket ve yükselme parametrelerinde gerek KA gerekse KA+SA gruplarında (KA+ASA grubunda daha fazla) intakt deneklere göre büyük düşüşler görülmüştür. İlginç olarak Y grubunda bu parametreler intakt deneklerdeki değerlere yaklaşırken, Y+ASA grubunda KA+ASA grubunun da çok altına düşmüştür. Alkoliklere göre yoksunlukta aktivite artışı görülürken Y+ASA grubunun aktivitesinin çok düşmesi, yoksunlukta aktivite artışında PG'lerin rolünün olduğunu ve bu maddelerin sentezinin inhibisyonunununda, aktiviteyi düşürdüğünü düşündürmektedir.

KA ve KA+ASA gruplarında aktivitedeki düşüşte PG entezinin inhibisyonunun rolü varsa (ki daha önce yayınladığımız bir çalışmamızda alkol ile ASA'nın beyinde PGE2 benzeri aktiviteyi aynı yönlü etkileyerek düşürdüklerini göstermiştik (15). yoksunlukta, ASA ve alkol baskısının kaçmasıyla aktivitede artışlar olmakta ve değerler intakt değerlere yaklaşmaktadır. Diğer araftan yoksunlukta ASA verilmesi aktivitedeki bu artışı askı altında almaktadır.

Demek ki beyindeki endojen PG'ler aktivite artışına mediatör yada modülatör rolü oynuyor diyebiliriz. Benzer bulgular araştırıcılık emsyonolite ve taranma parametrelerinde de görülmüştür.

Davranış parametreleri santral mekanizmalar ile düzenlenmekte ve PG ler burada mediatör rolü oynamaktadırlar. Alkol etkisiyle diğer endojen maddeler etkilendiği gibi PG benzeri aktivitede etkilenmekte ve normal düzeylerin altına düşmektedir (13). Sonuç olarakta gözlenen bu davranış parametrelerinde düşüşler kaydedilmektedir.

Yoksunlukta ise alkol baskısının kakması ve yoksunluğun bu gün bile çözülememiş mekanizmalarının etkisiyle davranışlar intakt deneklerin sayısal değerlerine yükselmektedir.

Yoksunlukta geriye dönen bu değerler, yoksunlukta ASA alan grupta geri dönüş göstermemektedir. Çünkü alkolün yapmış olduğu inhibisyonun yerini ASA'nın PG benzeri aktiviteyi inhibe etmesi almaktadır.

PG lerin beyindeki davranışla ilgili merkezlerde mediatör yada modülatör rolü oynadıkları bilindiğine göre bu çalışmanın sonuçları bize davranış parametrelerinde alkol tarafından meydana getirilen inhibisyonda, endorjen PG benzeri aktivitenin düşmesinin rolünün olduğunu düşündürmektedir.

ŞUMMARY

THE INVESTIGATION OF ALCOHOL-PROSTAGLANDIN INTERACTION WITH OPEN-FIELD TECHNIQUE IN THE BEHAVIORAL PARAMETERS

The studies have been done about this subject show that the open-field technique has been an easy and confidential method to observe the lack of the alcohol sendrom (Abstinence sendrom). -

In this study, it was suitable for us to investigate the differences between the behaviours of the rats that were in cronic alcoholic and in the abstinence by giving PG synthesis inhibitor for them, we considered the locomation, exploration, rearing and grooming parameters as well as the emotional parameters. The importance of the differences between the groups were appreciated with the standard errors. The student test was used in the appreciation of the results.

TEŞEKKÜR :

Open-field aygıtını, titiz çalışmasıyla en iyi şekilde yapıp bilim dalımıza hediye eden sayın Fikri Ertek'e, deneklerin test süresince gözlemlerinde yardımlarını esirgemeyen birimimiz uzmanlarından Dr. Nur Banoğluna, kronik alkolik sıçanların hazırlanmasında ve tartım, rektal temperatür gibi parametrelerinin ölçümünde en iyi şekilde çalışan Lab. Teknisyen sayın Yılmaz Yiğit'e ve birimimiz personeline teşekkürü bir borç biliriz.

KAYNAKLAR :

- 1- Bundar, P. G., Harvey, D.S., Mc pherson, K., Wing, D.R.: The effect of chronic ethanol treatment on membrane lipids in the mouse, *Br.J. Pharmac.* 78: 958., 1981.
- 2- Goldstein, D.B.: An animal model for testing effects of drugs on alcohol withdrawal reactions, *Journal of Pharmac and exp. ther.* vol: 183, no: 1, p: 14-22, 1972.
- 3- Tabakoff, B., Boggan, W. O.: Effects of ethanol on serotonin metabolism in Brain, *Journal of Neurochemistry*, vol: 22, p: 759-764., 1974.
- 4- Ahtee, L., and Svarström, M-Fraser., Effect of ethanol dependence and withdrawal on the catecholamines in rat brain and heart. *Acta. pharmacol et toxicol*, 36: 289-298., 1975.
- 5- Wallgren, H., Kosunen, A.L. and Ahtee, L.T: echnique for producing an alcohol withdrawal syndrome in rats, *Brain Resacrh*, 42: 535-553 Ebbs Abs., 1972.
- 6- Hunt, W. A. and Majchrowicz, E.: Alternation sin the turnover of brain norephneprine and Dopamine in alcohol-dependent rats, *Journal of neurochemistr*(, vol: 23, p: 549-552., 1974.
- 7- Isaacson, L. R. and Green, J. E.: The effect of ACTH on locomation, exploration, rearing and grooming, *Behavioral Biology.*, 24: 118-112, 1978.
- 8- Capaz, F. R., Vanooncellos, L.E. M, Demoraes, S and Palermo neto, J. The Open-Field: A simle method to show ethanol withdrawal symptoms, *Arch. İnt. Pharmacodyn.*, 251: 228-236., 1981.
- 9- Yamanaka, Y and Kono, S.: Brain catecholamine turnover in alcoholic mice., *Hiroshima Journal of medical sciences*, vol: 23, no: 2-3, p: 105-113 1974.
- 10- Ratcliff, F.: Eethanol dependence in the rat: İts production and characteristics., *Arch. int. Pharmacodyn*, 196: 146-156, 1972.
- 11- Wannmalm, A.: Nicotine mediated release of Prostaglandin E from the rabbit heart, *Acta physiol. scand* 29 (2): 281-282, 1976.
- 12- Kaymakçalan, Ş., Ercan, Z. S., Türker, R.K.: The evidence ofthe release of prostaglandin like material from Rabbit kidney and Guinae-pıg lung by trans -tetrahydrocannatinol., *J. Pharm. Pharmac*, 17: 564-568 1975.
- 13- Gacar, N., Gacar, H., Kesim Y., Banoğlu, N.: Kronik alkol uygulanan sıçanlarda beyin, karaciğer, serum PGE2 benzeri madde düzeyleri. *Tıp Bülteni cilt: 12 sayı: 4, sahife, 415-424, 1980.*
- 14- Collier, H. O. J., Mc Donald-Gibson, W. J., Saeed, S.A.: Stimulaton of prostaglandin biosynthesis by capsaicin, ethanol and tyramine., *Lancet*, i, 702., 1975.

- 15--Gacar, N., Gacar, H., Kesim Y., Banoğlu, N.: Alkol ve Aspirin (ASA) etkileşiminin beyin PGE2 benzeri madde düzeylerine tesiri., Tıp Bülteni, cilt: 12, sayı: 4, 391-398, 1980.
- 16- Bacopoulos, N. G., Bize., I., evine, J and von orden III. L.S.: Modification of ethanol intoxication by Dopamine agonist and antagonist., Psychopharmacology, 60: 195-201., 1979.