

173533

A.Ü.TIP FAKÜLTESİ
FARMAKOLOJİ KÜRSÜSÜ

173533

6-HİDROKSİDOPAMİN'İN
FARE BEYİN KATEKOLAMİNLERİNE ETKİSİ

Dr.İ.Hakkı ULUS
(İhtisas Tezi)

Ankara, 1972

Gerek asistanlığım süresince ve gerekse bu çalışmanın yapılmasında bana karşı gösterdikleri yakın ilgi ve anlayıştan dolayı sayın hocalarıma, değerli çalışma arkadaşlarıma ve Kürsü personeline teşekkürü bir borç bilirim.



İÇİNDEKİLER

GİRİŞ	1 - 10
MATEYEL ve METOD	11- 14
SONUÇLAR	15- 20
TARTIŞMA	21- 24
ÖZET	25
LİTERATÜR	26- 31

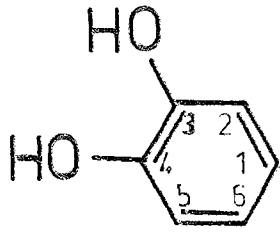


GİRİŞ

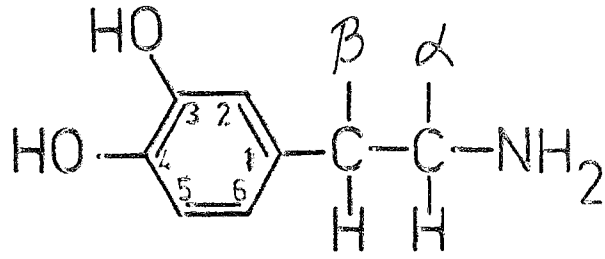
Bu çalışmada 6-hidroksidopamin'in (6-OH-DA) fare beyinde katekolamin (noradrenalin ve dopamin) nöronlarındaki etkileri biokimyasal olarak incelenmiştir. 6-OH-DA'nin periferik adrenerjik sinirlerdeki etkileri bir çok laboratuvar hayvanı türünde, merkezi sinir sistemindeki katekolamin nöronlarındaki etkileri ise sıçanda geniş olarak tetkik edilmiştir. Farede elde ettiğimiz sonuçlarla karşılaştırmak amacıyla periferik adrenerjik sinirlerdeki ve sıçan beyin katekolamin nöronlarındaki çalışmalar kısaca gözden geçirilecek ve bu maddenin meydana getirdiği etkilerin daha açıklıkla anlaşılmasında gerekli gördüğümüz katekolaminlerin sentezi, nöronda depolanması, nörondan açığa çıkması (release), nörona alınmaları (uptake) ve bunların düzenlenmesine ait genel bilgilerden ana hatlarıyla kısaca bahsetmek istiyoruz.

KATEKOLAMİNLER

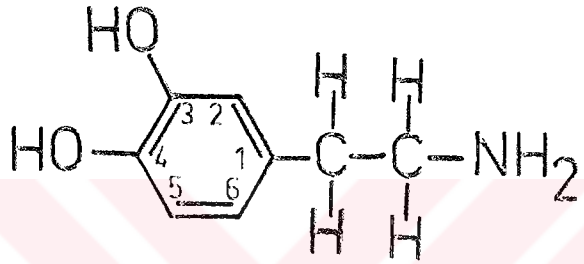
Katekolamin terimi yapısında bir katekol çekirdeği ve buna bağlı bir amin ihtiva eden organik bileşikler için kullanılır. Katekol çekirdeği iki hidroksil gurubu ihtiva eden bir benzen halkasıdır. Farmakolojide pratik olarak katekolamin denildiğinde dihidroksifeniletılamin (Dopamin, DA) ve onun metabolik ürünleri olan noradrenalin (NA) ve adrenalin (A) anlaşılır (Şekil 1). Katekolamin nöronları mediyatör olarak katekolamin ihtiva eden nöronlardır. Bilindiği gibi adrenalin sadece sürrenal medullasında bulunur. Periferik adrenerjik sinirlerde mediyatör olarak nor-



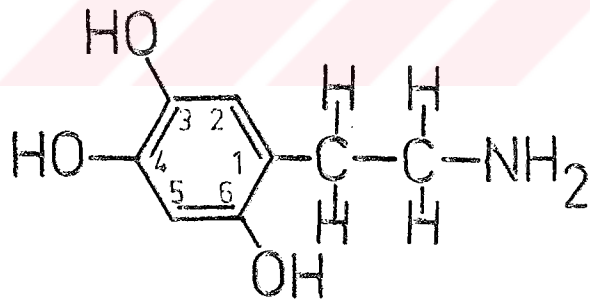
Katekol



Katekolamin



DOPAMİN



6 Hidroksidopamin

Şekil.1

adrenalin vardır. Periferik adrenerjik sinirlerde bir ön madde olarak dopamin bulunursa da bunun bir mediyatör olarak rolü yoktur. Merkezi sinir sisteminde ise DA noradrenalin nöronlarında bir ön madde olarak bulunduğu gibi bir mediyatör olarak da rol oynar. Mediyatörü dopamin olan nöronlar (dopaminerjik nöron) özellikle korpus striatumda bulunurlar.

Biosentez: Katekolaminler beyinde kromafin hücrelerinde, sempatik sinirlerde ve sempatik ganglionlarda tirozinden sentez edilir. Sentezin ilk kademesinde tirozin'in DOPA'ya

Tirozin \longrightarrow DOPA \longrightarrow Dopamin \longrightarrow Noradrenalin

Tirozin Dopa Dopamin
hidroksilaz dekarboksilaz beta-hidroksilaz

dönüşümü tirozin hidroksilaz tarafından sağlanır. Tirozin hidroksilaz yalnızca sempatik sinirlerle innerve dokularda sürrenal medullasında ve beyinde bulunur. Oldukça yüksek derecede substrat spesifitesi gösterir. Dolayında bulunan ve aktif transportla sinire alınan tirozin tarafından duyurulmuş olduğundan, tirozin'in arttırılması dopu NA ve DA seviyelerini yükseltmez. Bu özelliği nedeniyle NA ve DA sentezinde rate-limiting enzim olarak bilinir. İkinci kademe (DOPA'nın dopamine dönüşümünde) DOPA dekarboksilaz enzimi rol alır. Sempatik sinirler dışında da bol olarak bulunan bu enzim substrat spesifitesi göstermez. Bir çok aromatik L-amino asid'in substrat olması nedeniyle "L-aromatik aminoasid dekarboksilaz" olarak da bilinir.

Sentezde üçüncü enzim, dopamin'in noradrenaline dönüşmesini sağlayan, dopamin-beta-oksidaz (Dopamin-beta-hidroksilaz) dir. Bu enzimde tirozin hidroksilaz gibi sadece sempatik sinirlerde, sürrenal medullasında ve beyinde bulunur. Bu enzimin nöronda amin depo granüllerinde yerleşmiş olduğu bilinmektedir. Dopamin-beta-hidroksilaz yüksek substrat spesifitesi göstermez ve genel olarak feniletilaminleri okside ederek kendisine tekabül eden feniletanolaminlere çevirir. Bu özelliği nedeniyle tiramini oktopamine ve alfa-metildopamin'i alfa-metilnoradrenaline çevirir. Oktopamin ve alfa-metilnoradrenalin depo granüllerinde noradrenalin yerine geçerek "yalancıiletici" (false transmitter) olarak rol oynarlar.

Depolanma(Storage): Noradrenalin sempatik sinir ucunda ve sürrenal medulla kromafin hücrelerinde bazı subsellüler partiküller (granül veya vesikül) içinde depo edilmiş olarak bulunur. Bu depo vesikülleri (granülleri) bir membranla sitoplazmadan ayrılmıştır. Yapılarında zengin ATP ihtiva ederler. Molar konsantrasyonları karşılaştırıldığında 4 molekül ATP karşılık 1 mol katekolamin bulunur. Yapılarında ayrıca dopamin-beta-hidroksilaz, kromograninler ve Mg^{++} ve Ca^{++} dependent ATPase bulunur. Depo granülleri nöron gövdesinde sentez edilip akson boyunca sinir ucuna doğru taşınır. Bunun dışında sempatik sinirlerde ekstra-granüler noradrenalin depoları olduğu ileri sürülmektedir.

Nörondan salgılanma (Release): Sinir stimülasyonu veya bazı sekretuar maddelerin etkisiyle NA depo granüllerinden direkt olarak dışarı atılır. Sürrenal medullasında bütün granül muhtevasının (ATP, ATPase, katekolaminler, dopamin-beta-oksidaz ve kromograninler) dışarıya atıldığı ve boş

granülün içeride kaldığı bu olay eksositozis (exocytosis) olarak bilinir. Sempatik sinirlerde ise depo granüllerinde bazı alt bölümler olduğu ve bir defada bu alt bölümlerden birinin veya birkaçının tamamen salgılandığı kabul edilir.

Nörona alınış (uptake): Dışardan verilen veya sinir uyarılması ile açığa çıkan noradrenalin'in büyük bir kısmı tekrar nörona geri alınır. Bu olay membranda yerleşmiş (membran pomp'u) bir enzim-enerji sistemi vasıtasıyla sağlanır. Membran pomp'u oldukça efektif olarak çalışır ve sinirde NA konsantrasyonunu dışarıya göre 10.000 defa daha yüksek olmasını sağlar. Olayda enzim-substrat ilişkilerinin bütün özellikleri görülür. Bu nedenle yüksek doz NA kullanılması bu sistemi doyurur ve NA nöron dışı dokularda birikir. NA'nin bu nöron dışı dokulara alınması da aktif bir olay olup başka bir enzim-enerji sistemi ile başarılmaktadır. Bu iki taşınmayı ayırmak için nöronal olana "alınış₁ (uptake₁)" nöron dışı dokulara olan alınmaya ise "alınış₂ (uptake₂)" denilmiştir.

Metabolizma: Katekolaminlerin parçalanları başlıca iki enzim vasıtasıyla olur. Nöron içinde parçalanma monoamin-oksidad (MAO), ektranöronal parçalanma ise katekol-O-metil transferaz (COMT) tarafından yapılır. Nöronda katekolaminleri granüllerde bulunuşu MAO'nun etkisinden korur ve ancak sitoplazmada serbest haldeki katekolaminler MAO tarafından parçalanır. (Iversen, 1967; Cooper, Bloom, Roth, 1970).

6-Hidroksidopamin(6-OH-DA): Kimyasal formülünde, benzen halkasındaki 3 ve 4 pozisyonunda ihtiva ettiği iki (OH) grubuna ilaveten, 6 pozisyonunda üçüncü bir (OH) grubu ihtiva etmesiyle dopaminden farklılık gösteren bir maddedir (Şekil 1). Bununla beraber adrenerjik sinirlerde meydana getirdiği enteresan etkiler nedeniyle son yıllarda büyük bir ilgi görmüştür. Deneysel hayvanlarında "kimyasal sympatektomi" yapmak için (Thoenen, Tranzer ve Haüssler, 1970) geniş olarak kullanılan bu enteresan maddenin etkileri iki alt kısımda gözden geçirilmeye çalışılacaktır.

6-OH-DA'nın periferik adrenerjik sinirlerde meydana getirdiği etkiler: Tek doz 6-OH-DA'den sonra fare kalbindeki noradrenalin mühtevasında % 50 den fazla bir azalmanın meydana geldiği ve bu etkinin 25 günden daha uzun bir süre devam ettiği ilk defa Porter, Totaro ve Stone (1963) tarafından bildirilmiştir. Aynı husus kobaylarda, yayru kedilerde ve farelerde değişik organlarda gösterilmiştir (Laverty, Sharman ve Vogt, 1965). Tranzer ve Thoenen; Thoenen ve Tranzer, (1968) elektronmikroskopu ile yaptıkları çalışmalarda 6-OH-DA'den sonra periferik adrenerjik sinir sonlarında dejenerasyonu gösteren bazı yapısal değişimler olduğunu tesbit etmişlerdir. Periferik adrenerjik sinirlerle innerve dokularda 6-OH-DA'nın meydana getirdiği uzun süreli noradrenalin deplesyonu (boşalması) histokimyasal metodlarla da teyid edilmiştir (Malmfors ve Sachs, 1968). 6-OH-DA'le meydana gelen bu etki bu maddenin adrenerjik sinirlerdeki noradrenalin depo yerlerinde meydana getirdiği lezyonlara (Laverty, Sharman ve Vogt, 1965) veya biolojik yarı-ömrü

çok uzun ve noradrenalin depo veziküllerine afinitesi çok yüksek olan bir yalancı transmitter meydana gelmiş olma (Porter, Totaro ve Burcin, 1965) ihtimaline bağlanmıştır. Bununla beraber elektron mikroskobu çalışmaları ile tespit edilen sinir sonlarındaki dejenerasyonun NA deplesyonunu esas sebebi olduğu fikri de ileri sürülmüştür (Tranzer ve Thoenen, 1968 a,b). Daha önce kullanılan desmetilimipramin (DMI) veya benzeri nöronal membran pomp'u blokörlerinin 6-OH-DA'nin sebep olduğu noradrenalin boşalmasını (Stone, Porter, Stavorski, Ludden ve Totaro, 1964) ve buna uyan histokimyasal değişmelerini (Malmfors ve Sachs, 1968) önlediği gösterilmiştir. 6-OH-DA'nin adrenerjik sinirlerdeki selektif etkileri bu maddenin bu sinirlere aktif olarak membran pomp'u ile alınmalarına (uptake₁) bağlanmış ve etkileri için bu alınmanın ön şart olduğu fikri ileri sürülmüştür (Tranzer ve Thoenen, 1968 a, Malmfors ve Sachs, 1968, Saner ve Thoenen, 1971).

Son yıllarda çeşitli hayvan türlerinde ve çeşitli organlardaki adrenerjik sinirlerde 6-OH-DA'nin etkileri fluoresans veren histokimyasal metodlarla in vivo (Malmfors , 1971) ve in vitro (Sachs, 1971) olarak incelenmiştir. Malmfors(1971) in vivo olarak yetişkin fare, sıçan ve yavru kobaylarda iris, atriyum, vasdeferens ve süperiyor servikal ganglionda yaptığı çalışmalarda adrenerjik nöronun çeşitli kısımlarının 6-OH-DA'e karşı olan duyarlılık farklarını tetkik etmiştir. Nöron gövdesinin en az, sinir sonlarının ise en fazla hassas olduğu tesbit edilmiştir. Akson'un gövdeye yakın kısımlarında da uclara göre daha az hassasiyet tesbit edilmiştir.

Ayrıca yavru hayvanlarda nöronun her tarafında yetişkinlere göre daha fazla bir hassasiyet olduğu ileri sürülmüştür. İn vitro deneylerde (Sachs, 1971) nöron bölümlerindeki duyarlılık farklılığı aynon teyid edilmiştir. Hayvan türlerinden farede, 6-OH-DA'in etkilerinin (iristo ve atriyumda) sıçana göre daha süratle oluştuğu tesbit edilmiştir.

6-OH-DA'in zerkinden sonra izole sıçan kalbinde noradrenalin'in nörona alınması ($uptake_1$) ileri derecede bozulmuş fakat ekstrasöronal alınmada ($uptake_2$) herhangi bir değişme olmadığı bildirilmiştir (Hellmann, Hertting ve Peskar, 1971).

6-OH-DA'nin sıçan beyinde NA ve DA nöronlarına etkisi:
Sistemik olarak verilen 6-OH-DA'in kan-beyin bariyerini geçmediği ve bu nedenle beyin NA seviyelerinde bir değişmeye sebep olmadığı gösterilmiştir (Laverty, Sharman ve Vogt, 1965). İntraventriküler ve intrasisternal olarak beyin omurilik sıvısına veya direkt olarak beyine zerke edilen (intraserebral) 6-OH-DA'nin sıçan beyinde NA ve DA nöronlarında meydana getirdiği etkiler biokimyasal (Burkard, Jalfre ve Blum, 1969; Evetts, Uretsky, Iversen ve Iversen, 1970; Laverty ve Taylor, 1970; Breese ve Traylor, 1970, 1971; Iversen ve Uretsky, 1971) histokimyasal (Ungerstedt, 1971) metodlarla ve elektron mikroskopu ile (Bloom, 1971; Richards, 1971; Bartholini, Thoenen ve Fletscher, 1971) geniş olarak incelenmiştir.

Iversen ve Uretsky (1971) muhtelif doz 6-OH-DA'nin intraventriküler olarak zerkinden sonra beyin NA ve DA miktarlarında doza bağlı olarak bir azalma olduğunu ve

değerlerin tekrarlanması etkiyi ileri derecede arttırdığını tespit etmişlerdir. Aynı araştırmacılar NA ve DA depresyonunun uzun süre devam ettiğini zerkten 142 gün sonra dahi NA ve DA seviyelerinin normale dönmediğini bildirmişlerdir. Katekolamin sentezinde rolü bulunan enzimlerden tirozin hidroksilaz aktivitesinde ileri derecede bir azalma olduğu beyin bütün bölgelerinde tesbit edilmiştir. Depa dekarboksilaz aktivitesi striatumda % 63 hipotalamusta ise %23 oranında azalmıştır. MAO'da herhangi bir değişme olmamıştır. Bunun dışında 6-OH-DA'dan sonra beyin bütün bölgelerinde ³H-L-NA tutulmasında bir azalma olduğu ve nörondaki uptake sabalarının ortadan kalktığı bildirilmiştir (Iversen ve Uretsky, 1971).

Elektron mikroskopu çalışmaları ile 6-OH-DA'zerkinden 8-24 saat sonra başlayan ve gelişerek 5-7 günde tamamlanan sinir sonu dejenerasyonları tesbit edilmiştir. (Bloom, 1971) Sinir hücresi gövdesinde uçlara oranla çok az değişme olduğu yine bu çalışmalarla tespit edilmiştir. (Bloom, 1971; Richards, 1971).

Sıçan beyninde katekolamin nöronlarında meydana getirdiği bu etkiler nedeniyle, bu nöronlarla ilgili fonksiyonların incelenmesinde veya etkilerinde merkezi NA ve DA'nın rolü olduğu düşünülen ilaçların etki mekanizmalarının araştırılmasında 6-OH-DA çok kullanılan bir test maddesi haline gelmiştir (Evetts, Uretsky, Iversen ve Iversen, 1970; Ulus ve Kıran, 1971; Tulunay, Kıran ve Kaymakçalan, 1971; Ayhan, 1972; Nakamura ve Thoenen, 1971, 1972; Nakamura, Kuntzman, Maggio ve Conney, 1972;

Simmonds ve Uretsky, 1970; Uretsky ve Schoenfeld, 1971; Laverty ve Taylor, 1971; Breese, Moore ve Howard, 1972).

Bilindiği gibi farmakoloji laboratuvarlarında merkezi katekolamin nöronları ile ilgili ilaçların incelenmesinde deney hayvanı olarak fare geniş olarak kullanılmaktadır. Biz bu nedenle intraventriküler olarak zerk edilen 6-OH-DA'nın fare beyninde NA ve DA nöronlarında meydana getirdiği etkileri biokimyasal olarak incelemeyi ve sonuçları sıçandaki elde edilmiş sonuçlarla karşılaştırmayı düşündük.

MATERYEL ve METOD

Deneyde 20-35 gram ağırlığında erkek ve dişi fareler kullanıldı. Fareler 24-36 lık guruplar halinde kafeslere konularak ışığı 12 saat aydınlık (saat 6.00-18.00) ve 12 saat karanlık (saat 18.00-6.00) olacak şekilde ayarlanmış bir odada muhafaza edildiler. Hayvanların gıda ve su alımları serbest tutuldu.

Noradrenalin ve Dopamin tayini:

NA ve DA tayinleri trihidroksiindol metoduna göre yapıldı. NA ve DA'nın beyinden elde edilmesinde ve fluorensans meydana getirmek için yapılan oksidasyon işlemlerinde Anton ve Sayre'nin NA için (1962) DA için (1964) de tarif ettikleri metodlar bazı değiştirmeler yapılarak izlenildi. Kısaca:

NA ve DA'nın beyinden elde edilmesi.

1.) Kafaları kesilerek öldürülen farelerden beyinler çıkarılarak süratle kurulandı ve tartıldı. 10 ml 0.4 N perklorik asid içinde cam doku öğütücüsü (tissue grinder) ile 1 dakika süre ile homojenize edildi.

2.) Homojenat bir polietilen santrifüj tüpüne alındı. Öğütücü 5 ml 0.4 N perklorik asidle iki defa yıkanarak bunlarda polietilen tüpe alındılar. 10 dakika süre ile ve 30.000 g ile + 10°C'de santrifüje edildi.

3.) Berrak kısım içinde 500 mg Al_2O_3 (300 mg BDH nötral + 200 mg Camag asidik pH=4,5), 500 mg Na_2 EDTA ve 50 mg sodyum meta-Bisülfid ihtiva eden bir behere alındı. Esas metotta (Anton ve Sayre, 1962) asitte yıkanmış Woolm

(nötröl) Al_2O_3 400 mg, EDTA 200 mg ve sodyum meta-bisülfid 10 mg olarak kullanılmıştır. Biz yukarıda belirttiğimiz miktarları özellikle DA rekaverisinde daha iyi sonuçlar elde ettik.

4.) Damla damla NaOH (10,5 ve I N) ilave ederek ve devamlı karıştırarak pH metre ile pH 8,6'ya ayarlandı. 5 dakika süre ile kuvvetle çalkalandı.

5.) Berrak kısım atılarak Al_2O_3 8-10 defa 10-20 ml deiyonize su ile yıkandı.

6.) Al_2O_3 12 ml lik pyrex santrifüj tüpüne alınarak 3 ml 0,05 N perklorik asit ilave edilerek 30 dakika süre ile kuvvetle çalkalandı.

7.) 10 dakika süre ile ve $+10^{\circ}C$ de 30.000 g ile santrifüje edildi. Berrak kısım başka bir tüpe alınarak tayinler yapılincaya kadar buzlukta muhafaza edildi.

Oksidasyon (Fluoresans teşekkülü).

A.) Noradrenalin için:

1.) 3 ml.lik 0.05 N perklorik asit eluatından 0.2 ml alındı ve kuartz bir tüpe konuldu (Aminco-Bowman Spektrofotofluorometre'si için özel kuartz cell)

2.) 0.1 ml fosfat buffer ilave edildi. Kuvvetle çalkalandı.

3.) 0.02 ml potasyum ferri siyanid ($K_3Fe(CN)_6$) ilave edildi. Kuvvetle çalkalandı ve bir dakika beklenildi.

4.) 0.2 ml alkali askorbat ilave edilerek çalkalandı. Takiben süratle 0.5 ml distile su ilave edildi ve çalkalandı.

5.) Alkali askorbat ilavesinden 1.5-2 dakika sonra Aminco-Bowman Spektrofotofluorometresinde okundu. Aktivasyon ve emisyon dalga boyları sırayla 397 ve 497 idi.

Dopamin

- 1.) 3 ml'lik 0.05 N perklorik asit eluatından 0.2 ml alınarak kuartz tüpe kondu.
- 2.) 0.01 etilalkol takiben 0.1 ml fosfat buffer ilave edildi ve kuvvetle çalkalandı.
- 3.) 0.02 ml sodyum periodat (NaIO_4) ilave edildi, çalkalandı, 1 dakika beklenildi.
- 4.) 0.1 ml alkalın sülfid ilave edildi, kuvvetle çalkalandı.
- 5.) 0.28 ml distile su ilave edildi. Çalkalandı.
- 6.) 0.1 ml sitrat buffer ilave edildi. Çalkalandı.
- 7.) 0.17 ml fosforik asit ilave edildi. Çalkalandı.
- 8.) Aminco-Bowman SPD'de okundu. Aktivasyon dalga boyu 333 emisyon dalga boyu 390 idi.

Kullanılan maddeler ve solüsyonların hazırlanması

NA tayini için:

1.) Fosfat buffer (0.5 M pH=7): KH_2PO_4 1 M olarak hazırlandı ve pH NaOH ilave edilerek 7'ye ayarlandı. Takiben 0.5 M olacak şekilde sulandırılarak buzdolabında saklandı.

2.) Potasyumferrisiyanid(%0.25): Her defasında taze olarak hazırlandı.

3.) Alkali askorbat: 10 mg askorbik asit 0.1 ml distile suda eritilip 5 ml 10 N NaOH ilave edildi. Her defasında taze olarak hazırlandı.

DA tayini için:

1.) Fosfat buffer(0.5 M, pH=7): Hazırlanışı aynı.

2.) Etil alkol(% 70): Buzdolabında muhafaza edildi.

3.) Alkalin sülfid solüsyonu: 125 mg anhidroz Na_2SO_3 0.5 ml suda eritildi ve 4.5 ml 5 N NaOH ilave edilerek 5 ml'ye tamamlandı. Her defasında taze olarak kullanılmadan hemen önce hazırlandı.

4.) Sitrat buffer(0.5 M, pH=4): 1 M sitrik asit solüsyonuna NaOH ilavesiyle pH 4'e ayarlandı. 0.5 M olacak şekilde sulandırılarak buzdolabında muhafaza edildi.

5.) Fosforik asit(3 M): Buzdolabında muhafaza edildi.

6-OH-DA HBr (Roche): Süratle okside olması nedeniyle intraventriküler enjeksiyondan hemen önce 100 ml'sinde (700 mg NaCl, 23 mg KCl, 15 mg CaCl_2 , 30 mg MgSO_4 , 10 mg Na_2PO_4 , 50 mg Na_2SO_4 , 1000 mg askorbik asit) ihtiva eden aseptik ve doyurulmuş ve pH=5 olan solüsyonda eritilmiştir.

Intraventriküler enjeksiyon

Intraventriküler enjeksiyonlar hafif eter anestezisi altında yapıldı. Kafu derisi kesilerek açılan farelere Brittain (1966)'e göre ve sol-yan ventriküle zerkler yapıldı. 6-OH-DA yukarıda terkibi verilen solüsyonda eritilerek ve bütün dozlar 5 ul içinde verildi. Kontrol olarak aynı solüsyondan 5 ul zerk yapıldı.

İstatistikî değerlendirilmeler: Student'in "t" testine göre yapılmıştır. (Snedecor, 1956).

SONUÇLAR1.) Muhtelif doz 6-OH-DA'nin fare beyin NA ve DA seviyelerine etkisi:

Metotta belirtildiği şekilde sol-yan ventriküle zerk edilen 10, 25, 50, 100 ve 250 µg 6-OH-DA'nin beyin NA ve DA seviyelerinde meydana getirdiği değişiklik, bu hayvanlar zerkin 4. günü öldürülerek, tesbit edildi. Bütün dozlarda NA miktarları ileri derecede düşmüştü. Düşmeler kontrollardan anlamlı olarak farklıydı. DA seviyelerindeki düşme daha az olmakla birlikte kontrollardan anlamlı olarak (100 µg hariç) farklıydı. Enteresan olarak NA ve DA miktarlarındaki azalmalarda kullanılan 6-OH-DA dozu ile bir paralellik yoktu. NA miktarlarında en fazla düşmeyi 25 ve 50 µg 6-OH-DA meydana getirdi. 10, 100 ve 250 µg 6-OH-DA'nin meydana getirdiği NA azalması daha düşük ve birbirinden farksızdı. Benzer husus DA seviyelerindeki meydana gelen azalmalarda da tesbit edildi. Sonuçlar Tablo 1 de toplanmıştır.

2.) 50 ve 250 µg 6-OH-DA injeksiyonundan sonraki muhtelif zamanlarda fare beyin NA ve DA seviyeleri:

50 µg 6-OH-DA injeksiyonundan sonra muhtelif zamanlarda öldürülen farelerde beyin NA ve DA seviyeleri tayin edildi. 4., 12., 20. ve 50. günlerde yapılan tayinlerde gerek NA ve gerekse DA seviyelerinde bir değişme ve normale dönme tesbit edemedik. 50.günde dahi etki aynen devam ediyordu. 250 µg 6-OH-DA zerkinden sonra meydana gelen

Tablo I. Muhtelif doz 6-OH-DA'nin fare beyinde NA ve DA seviyelerine etkisi. Tayinler 4.gün yapılmıştır. Değerler ortalama \pm S.H. olarak ifade edilmiştir. Beyin NA ve DA miktarları gram başına düşen ng (ng/gr) ve herbiri kontrolün yüzdesi olarak gösterilmiştir (% K). Parantez içindeki rakamlar deney sayısını vermektedir.

6-OH-DA μ g	Noradrenalin		Dopamin	
	ng/gr	% K	ng/gr	% K
Normal...	359 \pm 12(4)	100 \pm 3	850 \pm 63 (4)	100 \pm 6
Kontrol...	378 \pm 22(11)	105 \pm 6	853 \pm 64(11)	100 \pm 8
10	205 \pm 17(4)	57 \pm 5 a	499 \pm 113(4)	59 \pm 12 d
25	121 \pm 19(4)	34 \pm 5 a	512 \pm 79 (4)	61 \pm 9 c
50	128 \pm 57(4)	36 \pm 16 b	606 \pm 108(4)	71 \pm 13 e
100	199 \pm 23(4)	56 \pm 8 a	687 \pm 140(4)	83 \pm 22 f
250	191 \pm 30(4)	54 \pm 8 a	465 \pm 62 (4)	58 \pm 7 a

- a p < 0,0005
b p < 0,0025
c p < 0,005
d p < 0,01
e p < 0,05
f p < 0,25 (A.D)

ölümler nedeniyle sadece 4.ve 20.günler tayin yapmak mümkün oldu. Enteresan ve 50µg 6-OH-DA'le elde edilen sonuçlardan farklı olarak, 250 µg 6-OH-DA'le 4.ve 20.günler tespit edilen NA ve DA seviyelerindeki değişme farklıydı. 4.gün % 54 olan NA seviyesi daha da azalarak % 23'e, aynı şekilde % 55 olan DA miktarı ise % 19'a düşmüş bulundu. 20.gün tespit edilen NA ve DA miktarları 4.gün tespit edilenlerden anlamlı olarak ($p < 0.01$) farklıydı. 50 ve 250 µg 6-OH-DA'den sonra beyin NA ve DA seviyelerindeki meydana gelen değişmelerde diğer önemli bir fark NA ve DA miktarlarının değişim oranlarında görüldü. 50 µg 6-OH-DA beyin NA seviyelerinde % 60 oranında bir azalmaya sebep olurken DA seviyelerinde ancak % 30 civarında bir azalma meydana gelmiştir. Oysaki 250 µg 6-OH-DA'den sonra gerek 4.gün ve gerekse 20.gün yapılan tayinlerde NA ve DA seviyelerindeki azalma eşit bulunmuştur. Sonuçlar Tablo 2 ve Şekil 2 de özetlenmiştir.

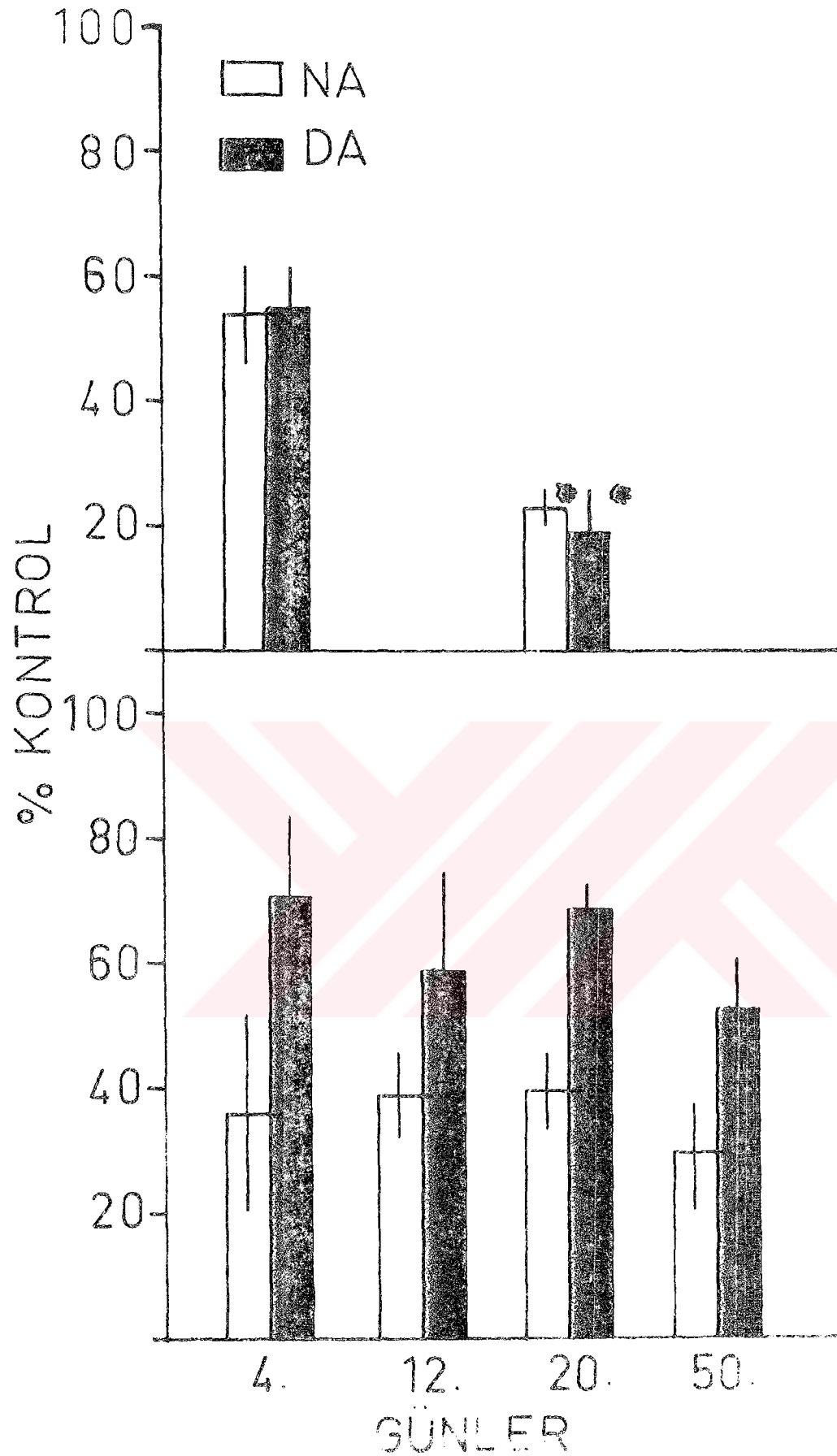
3.) Muhtelif doz 6-OH-DA'den sonra farelerde meydana gelen davranış değişiklikleri:

Yüksek doz (100 ve 250 µg) 6-OH-DA zerkinden kısa bir süre sonra(10-15 dakika),farelerde, arka arkaya tekrarlanan konvülsiyonlar meydana gelmiştir. Özellikle 250 µg 6-OH-DA'den sonra konvülsiyonlar daha şiddetli ve daha sık olarak tespit edildi. Bu iki guruptaki farelerden bir kısmı bu konvülsiyonlar sonucu öldüler. Konvülsiyonlar ve buna bağlı ölümler en çok zerkten sonraki ilk iki saatlik süre içinde görüldü. Giderek konvülsiyonlar seyrekleşti ve farelerde genel bir depresyon başladı. 250 µg

Tablo 2. 50 ve 250 ug 6-OH-DA'den sonra muhtelif zamanlarda öldürülen farelerde beyin NA ve DA seviyeleri. Değerler ortalama + S.H. olarak ifade edilmiştir. Gram başına düşen NA ve DA ng (ng/gr) ve kontrolün yüzdesi (% K) olarak gösterilmiştir. Parantez içindeki rakamlar deney sayısına vermektedir.

	Noradrenalin		Dopamin	
	ng/gr	% K	ng/gr	% K
<u>50 ug 6-OH-DA</u>				
4.gün	128 _± 57(4)	36 _± 16	606 _± 108(4)	71 _± 13
12.gün	139 _± 25(4)	39 _± 7	504 _± 137(4)	59 _± 16
20.gün	151 _± 26(4)	40 _± 6	587 _± 34 (4)	69 _± 4
50.gün	102 _± 27(4)	29 _± 8	454 _± 64 (4)	53 _± 8
<u>250 ug 6-OH-DA</u>				
4.gün	191 _± 30(4)	54 _± 8	465 _± 62 (4)	55 _± 7
20.gün	81 _± 12(4)	23 _± 3 ^x	160 _± 56 (3)	19 _± 7 ^x

x= p 0.01 (4.gün ve 20.gün arasındaki değerler karşılaştırıldığında)



Şekil.2: 250 µg (üstte) ve 50 µg (altta) 6-OH-DA injeksiyondan sonra muhtelif zamanlarda tayin edilen fare beyin NA ve DA seviyeleri.

* : $p < 0.01$ (4.gün ve 20.gün NA ve DA miktarlarına mukayese edildiğinde)

6-OH-DA verilmiş 28 farenden 17'si (% 60) ilk iki saat içinde belirtilen konvülsiyonlar sonucu öldüler. 100 µg 6-OH-DA'den sonra ise aynı süre içinde 16 farenden 5 tanesi (% 31) öldü. Fareler seslere ve dokunmaya karşı ileri derecede hassas idiler. Kafeslerine vurmak veya dokunmakla konvülsiyonlar meydana geliyordu. Düşük doz (10,25 ve 50 µg) 6-OH-DA verilen farelerde konvülsiyon görülmedi. Bu guruptaki farelerde ölüme tespit edilmedi. Bununla beraber bu guruptaki farelerde de zerkten kısa bir süre sonra piloereksiyon tespit edildi. Ayrıca seslere ve dokunmaya karşı hassas idiler. Yakalanmaları ve enjeksiyon yapılması daha güçtü (Kontrollara göre). Enjeksiyonu takip eden günlerde genel olarak bütün farelerde bir düzelme görülmekle birlikte 250 µg 6-OH-DA almış farelerde 10'uncu günde bile depressif bir durum vardı. İntraventriküler olarak kontrol solüsyonu yapılmış farelerde konvülsiyon ve belirtilen davranış değişiklikleri görülmedi.

TARTIŞMA

Intraventriküler olarak zerkedilen muhtelif doz 6-OH-DA'den sonra fare beyin NA ve DA miktarlarında meydana gelen azalmalar, bu maddenin, fare ve sıçanda merkezi katekolamin nöronlarında sebep olduğu biokimyasal değişmelerin benzer olduğunu telkin etmektedir.

Elde ettiğimiz sonuçlara göre düşük dozlarda 6-OH-DA'den sonra farede beyin NA seviyelerinin daha çok düştüğü ve DA miktarlarındaki azalmanın buna oranla daha az olduğu görülmektedir. 50 µg 6-OH-DA'den sonra 20.gün yapılan tayinlerde beyin NA seviyesi kontrollerin % 40'ı DA seviyesi ise % 69'u olarak bulundu (Tablo 1,2). Bununla beraber 250 µg 6-OH-DA'den sonra 20.günde yapılan tayinlerde NA ve DA miktarları kontrollara göre sırayla % 23 ve % 19 idiler. Görüldüğü gibi 6-OH-DA dozu arttırıldıkça beyin DA seviyelerinde de buna paralel olarak bir azalma meydana gelmektedir. Sıçanlarda yapılan çalışmalarda da düşük doz 6-OH-DA ile daha çok NA miktarlarının etkilenmediği dozun arttırılmasıyla DA miktarlarındaki azalmanın arttığı gösterilmiştir. Bu hassasiyet farklılığının 6-OH-DA'nin NA nöronlarına olan affinitesinin (membran pomp'u bakımından) DA nöronlarından daha yüksek olmasıyla izah edilmiştir (Iversen, 1970). Breese ve Traylor (1971) intrasisternal olarak 25 µg 6-OH-DA zerkinden sonra 14.gün sıçan beyin DA seviyelerinde bir değişme olmaksızın NA miktarında % 35 oranında bir düşme tespit etmişlerdir. Aynı araştırmacılar 250 µg 6-OH-DA'den sonra ise NA ve DA

miktarlarında sıra ile % 63 ve % 51 oranında bir düşme olduğunu bildirmişlerdir. Bartholine, Thoenen ve Pletscher (1971) 200 µg 6-OH-DA'nin intraventriküler zerkinden 2 gün sonra beyin NA ve DA seviyelerini sırayla % 35 ve % 68 olarak bulmuşlardır. 250 µg 6-OH-DA zerkinden 10 gün sonra sıçanlarda (Burkard, Jalfre ve Bloom, 1969) beyin NA ve DA seviyelerinin sırayla % 47 ve % 57, 2 gün sonra (Iversen ve Uretsky, 1971) ise % 33.9 ve % 46.1 olduğu bildirilmiştir. Zerkten iki hafta sonra yapılan tayinlerde 250 µg 6-OH-DA ile % 35 ve % 65 olarak tespit edilen NA ve DA seviyelerinin 500 µg 6-OH-DA'den sonra % 21 ve % 26.5'a düştüğü gösterilmiştir (Evetts, Uretsky, Iversen ve Iversen, 1970). Biz de kontrol amacı ile yaptığımız deneylerde 250 µg 6-OH-DA'den sonra 4.gün sıçan beyin NA ve DA seviyelerini sırayla % 35 ve % 42 olarak tespit ettik (Basılmamış, şahsi gözlem).

Meydana getirdikleri NA ve DA seviyeleri değişimleri karşılaştırıldığında farede 50 µg 6-OH-DA ile elde edilen etkinin sıçanda 200-250 µg ile, 250 µg ile elde edilen etkinin ise 500 µg ile meydana geldiği görülmektedir.

Muhtelif doz 6-OH-DA'den sonra 4.gün yapılan tayinlerde NA ve DA seviyelerinde elde edilen azalmalar dozla paralellik göstermemiştir. (Tablo 1) Bu ilk bakışta çelişkili görülmekle beraber muhtemelen 6-OH-DA ile katekolamin nöronlarında meydana gelen lezyonların oluşmasının tamamlanması ve bunun biokimyasal yansımalarının teşekkülü için 4 günden fazla bir zaman gerekmektedir. Nitekim sıçanlarda

yapılan çalışmalarda da benzer hususlar tespit edilmiştir. Sıçanlarda 6-OH-DA zerkinden bir gün sonra NA seviyelerindeki azalma yanında DA seviyelerinin normalden yüksek olduğu ve normal sabit etkinin (biokimyasal olarak) 2-4 günde tamamlandığı ileri sürülmüştür (Laverty ve Taylor, 1970; Iversen, 1971; Nakamura, Kuntzman, Maggio ve Conney, 1972). Ungerstedt (1971) intraventriküler sıçan beyin katekolamin nöronlarındaki etkinin iki safhada meydana geldiğini fluoresans veren histokimyasal metodlarla göstermiştir. İlk safhada (24 saat içinde) ventrikül civarında kalınlığı doza bağlı olarak 0.5-2 mm arasında değişen bir hattaki sinir sonlarından katekolaminler deplete olur. İkinci safhada ise (ki bu 3-7 günde tamamlanır) başlangıçta deplete olan ventrikül civarı nörotransmitterlerinin normale dönmesi ve beynin diğer yerlerinde etkinin gelişmesi ve tamamlanması olur. 10. günden sonra histokimyasal olarak herhangi bir değişim olmadığı ileri sürülmüştür (Ungerstedt, 1971). Elektron mikroskobu çalışmaları ile de katekolamin nöronlarındaki dejenerasyonun 6-OH-DA zerkinden 8-24 saat sonra başladığı ve gelişerek 5-7 günde tamamlandığı gösterilmiştir (Bloom, 1971). Farede bu nöronlarda meydana gelen lezyonların gelişmesi ve tamamlanması daha uzun sürüyor olabilir. Nitekim 20.günde yapılan tayinlerde, elde edilen sonuçlara kullanılan doz arasında bir paralellik vardı (Tablo 2, Şekil 2).

6-OH-DA'den sonra farelerde doza bağlı olarak meydana gelen davranış değişimleri sıçanlarda bildirilen değişimlere benzemektedir. 6-OH-DA'den sonra dokunmaya

seslere ve dış uyaranlara karşı duyarlılık artışı ve piloereksiyon birçok araştırmacı tarafından sıçanlarda gösterilmiştir(Evetts,Uretsky,Iversen ve Iversen,1970; Laverty ve Taylor,1970; Ulus ve Kiran, 1971;Nakamura ve Thoenen,1972; Jacks,Champlain ve Cordeau,1972). 100 ve 250 µg 6-OH-DA'den sonra farelerde meydana gelen konvülsiyon ve ölümler sıçanlarda da bildirilmiştir(Ulus ve Kiran,1971;Iversen ve Uretsky,1971;Jacks,Champlain ve Cordeau, 1972).

Buraya kadar özetlemeye çalıştığımız ve kısaca münakaşasını yaptığımız sonuçlar gözönüne alındığında; intraventriküler olarak zerkedilen 6-OH-DA'nin beyin katekolamin nöronlarında meydana getirdiği etkiler(bio-kimyasal olarak ve davranış değişiklikleri olarak)genel olarak büyük bir benzerlik göstermektedir. Beyin NA ve DA miktarlarında yaklaşık olarak aynı oranda değişim meydana getiren dozlar ve konvülsiyon yapıcı dozlar karşılaştırıldığında farede 3-4 defa daha düşük dozlar gerektiği görülmektedir.

ÖZET

Hafif eter anestezisi altında sol yan ventriküle zerk edilen muhtelif doz 6-OH-DA'nin fare beyinde NA ve DA nöronlarına etkisi zerkten sonraki muhtelif zamanlarda biokimyasal olarak incelendi.

1.) 50 ve 250 µg 6-OH-DA'den sonra 20.günde yapılan tayinlerde beyin NA ve DA seviyeleri kontrollara göre sırayla % 30, % 69, % 23 ve % 19 bulundu.

2.) 50 µg 6-OH-DA etkileri 4. 12. 20. ve 50.günler incelendiğinde NA ve DA seviyelerindeki azalmanın değişmeden devam ettiği tespit edildi.

3.) 100 ve 250 µg 6-OH-DA'den sonra farelerde arka arkaya tekrarlanan konvülsiyonlar görüldü. 250 µg 6-OH-DA yapılmış 28 fareden 17'si (% 60) 100 ug 6-OH-DA zerkedilen 16 fareden 5'i ilk iki saat içinde konvülsiyonlar sonucu öldüler.Genel olarak bütün dozlarda farelerde dış uyaranlara karşı (ses ve dokunmaya) bir hassasiyet artışı tespit edildi.

4.) Biokimyasal ve davranış değişimleri bakımından fare ve sıçandaki sonuçlar karşılaştırıldığında genel bir benzerlik görüldü.

LİTERATÜR

- ANTON, A.H. ve D.F.SAYRE: A study of the factors affecting the aluminum oxide-trihydroxyindole procedure for the analysis of catecholamines. *J.Pharmacol.Exp.Ther.* 138: 360-375, 1962.
- ANTON, A.H. ve D.F.SAYRE: The distribution of dopamine and dopa in various animals and a method for their determination in diverse biological material. *J.Pharmacol.Exp.Ther.* 145:326-336, 1964.
- AYHAN, I.H.: Effect of 6-Hydroxydopamine on morphine analgesia. *Psychopharmacologia.* 25:183-188, 1972.
- BARTHOLINI, G., H.THOENEN ve A.PLETSCHER: Biochemical effects of 6-hydroxydopamine in brain without detectable ultrastructural changes. 6-Hydroxydopamine and catecholamine neurons. Editors: Malmfors, T ve H.Thoenen. North-Holland Publishing Company, Amsterdam-London, 1971. sayfa: 163-170.
- BELL, L.J., L.L.IVERSEN ve N.J.URITSKY: Time course of the effects of 6-hydroxydopamine on catecholamine-containing neurones in rat hypothalamus and striatum. *Br.J. Pharmac.* 40: 790-799, 1970.
- BLOOM, F.T: Fine structural changes in rat brain after intracisternal injection of 6-hydroxydopamine. 6-Hydroxydopamine and catecholamine neurons. Editors: Malmfors, T ve H.Thoenen. North-Holland Publishing Company, Amsterdam-London, 1971'de sayfa: 135-150.

- BREESE, G.R. ve T.D. TRAYLOR: Effect of 6-hydroxydopamine on brain norepinephrine and dopamine: Evidence for selective degeneration of catecholamine neurons. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 174:413-420, 1970.
- BREESE, G.R. ve T.D. TRAYLOR: Depletion of brain noradrenaline and dopamine by 6-hydroxydopamine. *Br. J. Pharmacol.* 42: 88-99, 1971.
- BREESE, G.R., R.A. MOORE ve J.L. HOWARD: Central actions of 6-hydroxydopamine and other phenylethylamine derivatives on body temperature in the rat. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 180:591-602, 1972.
- BRITTAIN, R.T.: The intracerebral effects of noradrenaline and its modification by drugs in the mouse. *J. Pharm. Pharmacol.* 18:621-623, 1966.
- BURKARD, W.P., M. JALFRE ve J. BLUM: Effect of 6-Hydroxydopamine on behaviour and cerebral amine content in rats. *Experientia*, 25:1295-1296, 1969.
- COOPER, J.R., F.E. BLOOM ve R.H. ROTH: The biochemical basis of neuropharmacology. Sayfa: 80-141, New York Oxford University Press, New York, 1970.
- EVETTS, K.D., N.J. URETSKY, L.L. IVERSEN, S.D. IVERSEN: Effects of 6-Hydroxydopamine on CNS catecholamines, spontaneous motor activity and amphetamine induced hyperactivity in rats. *Nature*, 225: 961-962, 1970.
- HELLMANN, G., G. HERTTING ve B. PESKAR: Effect of pretreatment with 6-hydroxydopamine on the uptake and metabolism of catecholamines by the isolated perfused rat heart. *Br. J. Pharmacol.* 41: 270-277, 1971.

- JACKS, B.R., J. DE CHAMPLAIN ve J.P. CORDEAU: Effects of 6-hydroxydopamine on putative transmitter substance in the central nervous system. *European J. Pharmacol.* 18: 353-360, 1972.
- IVERSEN, L.L.: The uptake and storage of noradrenaline in sympathetic nerves. Cambridge University Press, London, 1967.
- IVERSEN, L.L.: Inhibition of catecholamine uptake by 6-hydroxydopamine in rat brain. *European J. Pharmacol.* 10: 408-410, 1970.
- IVERSEN, L.L. ve N.J. URETSKY: Biochemical effects of 6-hydroxydopamine on catecholamine-containing neurones in the rat central nervous system. 6-Hydroxydopamine and catecholamine neurons. Editors: T. Malmfors ve H. Thoenen North-Holland Publishing Company Amsterdam-London 1971'de sayfa: 171-186.
- LAVERTY, R., D.F. SHARMAN, M. VOGT: Action of 2,4,5-trihydroxyphenylethylamine on the storage and release of noradrenaline. *Brit. J. Pharmacol.* 24: 549-560, 1965.
- LAVERTY, R. ve K.M. TAYLOR: Effects of intraventricular 2,4,5-trihydroxyphenylethylamine (6-hydroxydopamine) on rat behaviour and brain catecholamine metabolism. *Br. J. Pharmacol.* 40: 836-846, 1970.
- MALMFORS, T.: The effects of 6-hydroxydopamine on the adrenergic nerves as revealed by the fluorescence histochemical method. 6-Hydroxydopamine and catecholamine neurons. Editors: Malmfors, T ve H. Thoenen. North-Holland Publishing Company Amsterdam-London. 1971'de sayfa: 47-58.

- MALMFORS, T. ve C.H.SACHS: Degeneration of adrenergic nerves produced by 6-hydroxydopamine. *European J.Pharmacol.* 3: 89-92, 1968.
- NAKAMURA, K. ve H.THOENEN: Hypotermia induced by intraventricular administration of 6-hydroxydopamine in rats. *European J.Pharmacol.* 16:46-53, 1971.
- NAKAMURA, K. ve H.THOETEN: Increased Irritability: A permanent behaviour change induced in the rat by intraventricular administration of 6-hydroxydopamine. *Psychopharmacologia (Berl)* 24: 359-372, 1972.
- NAKAMURA, K., R.KUNTZMAN, A.MAGGIO ve A.H.CONNEY: Effect of 6-hydroxydopamine on catecholamine concentrations and behaviour in the morphine-tolerant rat. *J.Pharm. Pharmac.* 24:484-487, 1972.
- PORTER, C.C., J.A.TOTARO, C.C.STONE: Effect of 6-hydroxydopamine and some other compounds on the concentration of norepinephrine in hearts of mice. *J.Pharmacol.Exp.Ther.* 140:303-316, 1963.
- PORTER, C.C., J.A.TOTARO ve A.BURGIN: The relationship between radioactivity and norepinephrine concentrations in the brains and hearts of mice following administration of labelled methyl dopa or 6-hydroxydopamine. *J.Pharmacol.Exp.Ther.* 150:17-22, 1965.
- RICHARDS, J.G.: Ultrastructural effects of 6-hydroxydopamine on catecholamine containing neurons in the rat brain. 6-hydroxydopamine and catecholamine neurons. Editors: Malmfors, T. ve H.Thoenen. North-Holland Publishing Company, Amsterdam-London, 1971'de, Sayfa: 151-162.

- SACHS, C.H.: Effect of 6-hydroxydopamine in vitro on the adrenergic neuron. 6-hydroxydopamine and catecholamine neurons. Editors: Malmfors, T. ve H.Thoenen. North-Holland Publishing Company. Amsterdam-London 1971'de sayfa: 59-74.
- SANTER, A. ve H.THONEN: Model experiments on the molecular mechanism of action of 6-hydroxydopamine. Mol.Pharmacol. 7:147-154, 1971.
- SIMMONDS, M.A. ve N.J.URITSKY: Central effects of 6-hydroxydopamine on the body temperature of the rat. Br.J. Pharmac. 40:630-638, 1970.
- SNEDECOR, G.W.: Statistical methods, 5.Ed.The Iowa State University Press Ames, Iowa; 1956, Sayfa: 73, 88, 91.
- STONE, C.A., C.C.PORTER, J.M.STAVORSKI, C.T.LUDDEN ve J.A.TOTARA: Antagonism of certain effects of catecholamine-depleting agents by antidepressant and related drugs. J.Pharmacol.Exp.Ther. 144: 196-204, 1964.
- THONEN, H. ve J.P.TRANZER: Chemical sympathectomy by selective destruction of adrenergic nerve ending with 6-hydroxydopamine. Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Path.exp.Pharmac. 261: 271-288, 1968.
- TRANZER, J.P. ve H.THONEN: An electron microscopic study of selective, acute degeneration of sympathetic nerve terminals after the administration of 6-hydroxydopamine. Experientia. 24: 155-156, 1968.

- THOENEN, H., J.P. TRANZTER ve G. HAÜSLER: Chemical sympathectomy with 6-hydroxydopamine. New aspects of storage and release mechanisms of catecholamines. Editors: H.J. Schümann ve G. Kroneberg. Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg. New York, 1970'de Sayfa: 130-142.
- TULUNAY, F.C, B.K.KIRAN ve Ş.KAYMAKÇALAN: The effect of 6-hydroxydopamine on the morphine abstinence syndrome in rats. Acta Medica Turcica. 8: 45-50, 1971.
- ULUS, I.H ve B.K.KIRAN: Amfetaminin sıçanda meydana getirdiği motor aktivite artışına 6-hidroksidopamin ve L-DOPA'nın etkileri. A.Ü. Tıp Fak. Mec. ~~Y.~~: 1060-1073, 1971. ²⁴
- UNGERSTEDT, U.: Histochemical studies on the effect of intracerebral and intraventricular injections of 6-hydroxydopamine on monoamine neurons in the rat brain. 6-hydroxydopamine and catecholamine neurons. Editors: Malmöfors, T., ve H.Thoenen. North-Holland Publishing Company, Amsterdam-London. 1971'de Sayfa: 101-128.
- URETSKY, N.J. ve R.I. SCHOENFELD: Effect of L-DOPA on the locomotor activity of rats pretreated with 6-hydroxydopamine. Nature (New Biology), 234: 157-159, 1971.