

— Derleme —

PSİKOFARMAKOLOJİDE DENEYSEL YÖNTEMLER

Dr. Hülya Güven*, Dr. Işık Tuğlular**

Anahtar kelimeler : Psikofarmakolojik ilaçlar
Key words : Psychopharmacological drugs

Kişilerin psikolojik ve mental durumlarını değiştirebilen ilaçların biyolojik araştırması ile ilgilenen bilim dalı olan psikofarmakoloji, günümüzde ilaç ilmi içinde en aktif durumda olan dallardan biridir. Bu grup içindeki ilaçlar etki şekli ne olursa olsun "psikotrop" ilaçlar olarak bilinir. Bu ilaçlar sentetik olabilecekleri gibi; afyon alkaloidleri, esrar kannabinoidleri gibi bitkisel; bicjen aminler, peptid'ler gibi hayvansal; lityum tuzları gibi mineral kaynaklı olabilirler.

Psikofarmakolojide amaç, psikiyatri başta olmak üzere bütün tıp dallarında davranış, coşkusal duygular ve algılama üzerinde etkili olabilen ilaçları sunabilmektir. Bu konularla ilgilenen psikofarmakoloji, aynı zamanda S.S.S. biyolojisi ile bunun fizyolojik ve patolojik işlevlerindeki gizlerin tanınması ve açıklanması yönünden de girişimlerde bulunur.

Bu araştırmalarda en büyük güçlük hayvanlarda elde olunan bulguların insanlara uyarlanması ve bunların yorumlanmasıdır. Bu nedenle, insandaki psikotrop etkileri belirlenmiş ilaçların deneysel çalışmalarda oluşturdukları değişikliklerin bilinmesi, bu yorumlamalara açıklık getirebilmektedir. Doğal yada sentetik bir maddenin psişizma üzerine etkin olup olmadığının anlaşılması için genel olarak bu maddenin a) Hayvan davranışlarına b) Sinir dokusu ve hücrelerine c) Sinir sisteminin elektriksel aktivitesi üzerine olan etkilerine bakılır.

Hayvan davranışları üzerine psikotrop ilaçların etkilerinin araştırılmasının psikofarmakolojinin gelişmesinde önemli bir yeri vardır. Bu tür testler

* Ondokuzmayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı Yardımcı Doçenti

** Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı Profesörü

için fare, sıçan, kedi, köpek, maymun ve balık gibi çok çeşitli türden hayvanlar kullanılır. Hayvanlar üzerine olan uygulama, bu hayvanların genel davranışlarının basit bir gözlemi şeklinde olacağı gibi, aynı zamanda geliştirilmiş araçlardan da yararlanabilir. Yalnız bu tür araştırmaların hepsinde aranan, seçilen hayvan örneklerinin olabildiğince insan patolojisine benzerlik göstermesidir. Hayvanların mental bozukluklarının olmaması ya da değerlendirilememesi, bu maddelerin araştırılmasını güçleştiren faktörlerdendir. Bu nedenle hayvanlar ilaç yardımı ile "depresif, şizofrenik yada agresif" duruma getirilmeye çalışılır.

Yazımızda da psikotrop ilaçların farmakolojisinin araştırılmasında kullanılan basit, uygulaması kolay olan deneysel yöntemler irdelenecektir.

I — Serbest Davranış Testleri :

Bu tür araştırmalarda ilk olarak ilaç uygulanan hayvanların genel davranışları, ilaç almayan hayvanlarla karşılaştırılarak objektif olarak gözlenir. Hayvanların motor aktiviteleri bir çok psikotrop ilaçla değişebileceğinden ilk olarak ilaçların bu yönü araştırılır. Bu yöntemlerin arasında delikli tahta testi, merdiven testi, Fetih testi gibi araştırma davranışını araştıran testler genellikle anksiyolitik ilaçların değerlendirilmesinde kullanılırlar. Bu testlerden sonra araştırılan ilaçların elektroşoka karşı antikonvülzan etkileri de araştırılarak anksiyolitikler ile anti epileptiklerin ayırımı sağlanmış olur.

a — Lokomotor aktivite ölçümü :

İçinde fotosel sayacı bulunan cam kutuya konulan farenin 30 dakikalık bir süre içinde, ışığın önünden kaç kez geçtiği sayılır. Daha sonra ilaç alan hayvanla almayan hayvan arasında karşılaştırma yapılır¹.

b — Farkedebilme ve hissetme yeteneği (Awaressness) :

Hayvanın atiklik ya da sersemlik durumu gözlenerek santral sinir sisteminin uyarılması ya da depresyonu hakkında bir fikir edinilir². Visuel plasing: Fare çeşitli pozisyonlarda yere bırakılır, düşme ya da yalpalama olmaksızın kalkıp kalkmadığına (oryantasyon yeteneğine) bakılır. Subnormal bir yetenek motor inkoordinasyonu gösterir².

Bazı ilaçlar farelerdeki stereotipi artırır (Stereotipi, hareketin mekanik olarak tekrarlanmasıdır. Farelerin sürekli olarak başını hareket ettirme, kendini ısırma, geri geri yürüme, kuyruk vurma gibi hareketleri vardır). Hareketlerdeki artma yada yavaşlama santral stimülasyonu yada depresyonu gösterir. Amfetamin başın araştırıcı hareketini artırır. Yine insanlarda toksik psikoz oluşturan çeşitli ilaçlar da stereotipik hareketleri artırır.

c — Titreşen kafes testi :

Dikdörtgen şeklindeki kafes bir yay ile statife asılır. Kafesin hareketleri kimografa yazdırılır. Kafes içinde yerleştirilen hayvanların birbuçuk ve otuz dakika süre ile hareketleri kaydedilir; test ilacı uygulandıktan sonraki durum ile karşılaştırılır².

d — Open - Field testi :

Bu test için kullanılan araç 100 x 100 cm'lik bir tahta olup 25 eşit kareye bölünmüştür. Ortasına konulan sıçanın davranışları beş dakika süre ile gözlenir. Bu süre içinde sıçanın katettiği kareler, iki ayak üzerine kalkmaları, el ve dili ile yaptığı temizlik hareketleri, defekasyonları sayılır. Test ilacı verilmiş sıçanla farkları araştırılır³.

e — Utangaçlık testi (Timidity - box) :

Bu test için kullanılan araç kenarlarında iki yarık bulunan 22x22x14 cm'lik bir kutudur. Bu kutunun içine konulan sıçanın üç dakikalık bir süre içinde kafasını bu yarıklardan kaç kez çıkardığı sayılır; test ilacını alan hayvanla karşılaştırma yapılır³.

f — Motor aktivite testleri :

Bu testte spontan aktivite gözlenir. Genellikle hayvanın merak davranışı derecelendirilir. Sıçanda görülen aktivite azlığı 4, 3 yada 2 olarak derecelendirilir. Eğer hayvanın aktivitesi çok azsa skor 1'dir. Uyuyorsa 0'dir. Aşırı meraklı bir aktivite gösteriyorsa skor 6'dır. Hayvan sabit bir hızla yürüyorsa skor yine 6 olarak belirtilir. Bazan koşarak yürüyorsa 7 ve ani hamleler varsa 8 dir².

g — Delikli tahta testi :

4 x 40 cm boyutlarında olan bir tahta üzerine düzenli aralıklarla 3 cm çapında 16 delik delinmek suretiyle oluşturulan bu gereçte normal davranış gösteren farelerin bes dakika boyunca her dakikada başlarını soktukları delik sayısı sayılır. İlaç uygulanan hayvanlarla karşılaştırılır⁴.

h — Fetih (Evasion) testi :

Bu test için kullanılan kutuda, kutunun kenarlarına yaslanan eğimli bir düzey vardır. Fareler dörtlü gruplar halinde bu kutuya konularak, 10 saniye süresince tabanda tutulur. Daha sonra serbest bırakılarak beş dakikalık süre içinde her farenin kutu kenarına çıkış sayısı test ilacının uygulanmasından önce ve sonra sayılarak karşılaştırılır⁵.

I — Sıçanda 'zorunlu yalanma" (gnawing) davranışı :

Bu testte sıçanlara 1.25 mg/kg IV apomorfine ya da IV 2 mg/kg metafetamin verilerek "zorunlu yalanma" oluşturulur. Etkisi ölçülerek ilaç bir saat öncesinden verilerek apomorfine ya da metamfetaminle oluşan yalanma davranışının önlenip önlenmediğine bakılır⁶.

j — Passivite testleri :

Pasivite ölçümlerinde hayvanın alışılmamış pozisyonlarda kalıp kalmadığına bakılır. Hayvan, alışılmamış pozisyon verildiğinde durumunu sürdürüyorsa; trankeilizasyonu, santral depresyonu, miyorelaksasyonu, paraliziye yada anesteziye gösterir.

Bu testlerin değerlendirilmesi için farenin çeşitli etkilere karşı verdiği cevap derecelendirilir. Tamamen hareketsiz hayvanın derecesi "10" olarak belirlenir. Gözlemlere göre derecelendirme aşağıdaki şekilde olur.

— Fare yürüme pozisyonunda iken boynunun arka kısmından baş parmak ve işaret parmağı ile tutulur. Etkilenmemiş fare kurtulmak amacıyla başını ve kollarını hareket ettirir. Bu pozisyonun derecesi "0" dir.

— Dikey durumda tutulan farenin gösterdiği çabanın derecesi "2" dir.

— Fare, gözlemcinin elinin sırtı üzerine supin pozisyonda (sırt üstü yatar pozisyonda) yerleştirildiğinde; kurtulmak için gösterdiği çabanın derecesi "4" dür.

— Fare yalnız bir tek arka ayağından baş aşağı tutulduğunda gösterdiği çabanın derecesi "6" dir.

— Fare yalnız bir tek ön ayağından tutulduğunda gösterdiği çabanın derecesi "8" dir.

Bu pozisyonların herhangi birine karşı oluşan yanıtızlık o durumun skorunu belirler².

II — Farede Lokomotor Yetersizlik Testleri :

Bu testlerle araştırılan maddelerde sedatif ve miyorelaksan etki ortaya çıkar. Miyorelaksan etkinin varlığı da genellikle anksiyolitik bir etki ile birlikte dir.

a — Dönen sopa testi :

Fareler için 5 cm, sıçanlar için ise 9 cm çapında, dönme hızı 10 rpm (dakikada 10 dönüş) olan yatay duran silindirik sopa üzerine fare ya da sıçan

birakılır. Normal bir fare veya sıçan bu silindir üzerinde 30 saniye durabilir. İlaç verildikten sonra dönen sopa üzerine hayvanlar konularak 30 saniye içinde düşenler saptanır⁷.

b — Boru testi :

Bu test için kullanılan araç; iç kapı 25 mm ve 20 cm boyu olan pyrex tüptür. Bu tüpün bir ucunda 20 cm yükseklikte bir işaret bulunur. Yatay olarak tutulan tüpün işaretine yakın olan taraftan fare, başı önde olacak şekilde sokulur ve fare diğer uca dadar yürüyüp gelince, tüp dikey duruma getirilir. 30 saniyeden önce işaretlenen seviyeye fare geri geri çıkabilirse test pozitifdir. Genellikle fareler ilaç verilmediği durumlarda bu testi başıyla yaparlar⁸.

c — Gergin tel testi :

İki çubuk arasına gerilmiş tel üzerinde normal bir fare ön ve arka ayakları ile tele tutunarak yürüyebilir. Araştırılacak ilacın etkisi bu yürüme durumuna göre değerlendirilir⁹.

III — Sıçanda Şartlandırma ve Cezalandırma Testleri :

Genellikle nöroleptik ilaçların etkisinin araştırılması için şartlanma üzerine olan etkiler incelenir. Bunlar hayvanın öğrenme, hafızasına yerleştirme, anımsama konusunda bilgi verirler. Ayrıca bu testler emosyonel yanıtların (baskı altına alınan davranışlar gibi) ortaya çıktığı durumda psikotrop ilaçların etkilerini belirler. Hayvanların yemek yeme ile ödüllendirilip yada elektrik şoku ile cezalandırması sırasında yorgun düşüp kendilerini ölüme terkettikleri görülebilir. Bu inhibisyon trankilizan ilaçlar ile kaldırılır.

a — Direğe tırmanma testi (Pole - Climbing) :

Bu deneyde kullanılan sıçanlar elektrik akımıyla birlikte ışık yada ses ile aynı anda uyarım yapılabilir şekilde donanmış 10x30x60 cm'lik bir kutuya konulur. Her hayvana tek tek elektrik uyarını (120 V 1mA, 5a) ile aynı anda 40 W'lık bir lambadan ışık yada ses uyarını verilir. Hayvanlara her gün 10-20 kez (15-20 gün süre ile) bu işlem uygulanarak ses yada ışık uyarısıyla birlikte elektroşok verildiğinde, hayvanın kafes içinde bulunan bir sopaya tırmanması sağlanarak koşullanma oluşturulur. Araştırılmak istenen ilaç verildikten bir saat sonra hayvan kutuya konularak elektrik uyarını verilir ve şartlanma davranışının inhibe olup olmadığı incelenir¹⁰.

b — Mekik kutusu testi (Shuttle box) :

Sıçan, iki bölmesi bulunan bir kutuya yerleştirilir. Koşullandırılmak iste-

nen sinyal verildiği anda hayvan elektrik şokundan sakınmak için bulunduğu bölmei değiştirmek zorundadır. Araştırılmak istenen ilaç verildikten sonra sıçan kutuya konularak şartlı refleksleri gözden geçirilir¹¹.

c — Sakınma davranışı testi :

Bu test için elektrot bağlanmış bir su şişesi hayvanların bulunduğu kutuya tesbit edilir. Su şişesine, su ve şekerli süt karışımı konular ve dört gün süre ile günde bir saat, kutunun değişik yerine konularak farelerin içmesi sağlanır. Bu şekilde hayvanlar bu süre içinde tüp nerede olursa olsun su içmeyi öğrenirler. Hayvanlar testten önce 24 saat bu sütlü solüsyondan yoksun bırakılırlar. Daha sonra hayvanlara test ilacı verilir ve bir saat süre boyunca hazırlanmış kafese konular. Elektrot bağlanmış olan su şişelerine akım verilir. Böylece su içmek isteyen hayvan her yaştığında bir elektrik şoku almış olur. Şu şekildeki uygulamada üst üste üç kez elektrik akımı almış hayvan mücadelesi azalmış olarak (conflinct attenuated) değerlendirilir^{12,13}.

d — Cezalandırma testi :

Dört plakalı test zemininde birbirinden ayrı dört metal plak bulunan bir kutu içine yerleştirilen farelerin bir plaktan diğerine atlaması sırasında kutunun tabanına elektrik verilir. Bir dakika süre içinde farenin aldığı elektroşok sayısı saptanarak test ilacını almış hayvanla karşılaştırılması yapılır¹⁴.

IV — Antiagresif Aktivite Testleri :

Antidepresif ilaçların değerlendirilmesinde kullanılan testlerdir.

a — Elektrik uyarımına bağlı kavga oluşturulması :

Bu testde aynı kafese konulmuş aynı türden hayvanlara elektrik şoku verilerek kavga etmeleri sağlanır. Birbiri ardınca oluşan üç kavga kriter olarak alınır. Sıçan ve fare gibi ayrı türden iki hayvana elektrik şoku uygulandığında ise sıçanın fareyi yediği görülür. Test ilacı verildikten sonra birbiri ardınca oluşan kavgaların kesilmesi ya da ayrı cins hayvanın yenmemesi santral sinir sisteminde oluşan bir inhibisyonu gösterir⁴.

b — Farenin izolasyonu ile kavga oluşturulması :

Her hayvan 5-6 hafta süre ile tek başlarına kafeslere konular. Bu süre sonunda fareler biraraya getirilerek beş dakika süre ile gözlenir. Farelerin kaç kez kavga ettikleri saptanır ve test ilacı verilen farelerle, ilaç almamış fareler karşılaştırılır¹⁵.

c — Klonidinle oluşturulan agresivite :

İp 50 mg/kg klonidin verilen fareler ikili olarak biraraya konulduklarında, birbirlerinin kuyruklarını ve sırt derilerini ısırma şeklinde bir agresivite gösterirler. Çapı 8 cm. yüksekliği 11 cm olan cam kavanoz içine yerleştirilen fare çiftlerinin 30 dakika içinde birbirlerine saldırma sayısı saptanır. Test ilacı uygulanan hayvanlarla karşılaştırma yapılır¹⁶.

V — Depresif Davranış Modelleri :

a — Ümitsizlik testi ::

40 cm. yüksekliğinde 18 cm çaptaki bir kap içine, seviyesi 15 cm olunca ya kadar ısı 25°C olan su ile doldurulur. Daha sonra bu suyun içine sıçanlar bırakılarak 15 dakika süre ile gözlenirler. Bu süre sonunda sudan alınırlar ve sadece 15 dakika kurumaları beklendikten sonra kendi kafeslerine konurlar. Bu ilk suya bırakma sırasında sıçanların kurtulmak için çaba gösterip hareketsiz kalıncaya kadar geçirdiği süre belirlenir (Genellikle 10 - 12 dakikadır). Aynı zamanda sıçanlarda orta derecede bir hipotermi oluştuğu da görülür (Kaybedilen ısı miktarı ortalama 3°C dir). 24 saat sonra tekrar su içine bırakılan hayvanların hareketsiz kalıncaya kadar geçirdikleri sürenin bu sefer 5 dakika olduğu görülür. Test ilaçlarının bu süreyi uzatıp ya da kısalttığına bakılır¹⁷. Antidepresif ilaçlar bu süreyi uzatırlar.

b — Yenidoğan bir hayvanı özellikle maymunu annesinden ayırmak suretiyle ortaya çıkan depresyon süresinin test ilacı ile nasıl etkilendiği gözlenir¹¹.

VI — Etkileşme Testleri :

a — Rezerpin testi :

Fare yada sıçan ip 3 mg/kg rezerpin uygulandıktan bir saat sonra test ilacı uygulanır. Rezerpinle oluşan pitozisin ortadan kalkıp kalkmadığına bakılır. Antidepresif ilaçlar bu etkiyi ortadan kaldırırlar¹⁸.

b — Oksitremorin testi :

Sıçanlara ip 0.5 mg/kg oksitremorin fumarat verildikten 30, 60, 120 dakika sonra rektal ısıları ölçülür. Oluşan hipotermi üzerine test ilacının etkisi araştırılır. Antidepresif ilaçlar bu etkiyi kaldırırlar¹⁸.

c — Amfetamin testi :

1 — Sıçanlardaki stereotipik hareketlerin artması santral uyarımı, yavaşlaması ise depresyonu gösterir. Amfetamin uygulandığında başın araştı-

ricı hareketi artar. Test ilacı ile bu hareketin önlenip önlenmediğine bakılır². Nöroleptik ilaçlar amfetaminin olduğu sterotipiye antagonize ederler.

2 — Farede grup toksisitesi : ip 12 mg/g Deksamfetamin sülfat verilen fareler derhal onarlı gruplar halinde 20x10x10 cm boyutlarındaki plastik kutulara yerleştirilir. Amfetamin uygulandıktan sonraki 1, 2 ve 4. cü saatlarda oluşan mortalite, test ilacı ile oluşana göre karşılaştırılır¹⁸.

d — Apomorfin testi :

Bu test için 10x10x18 cm'lik plastik kutu alınır. Bu kutunun tek bir yüzeyi hayvanların gözlenebilmesi için saydam ve açılır şekildedir. Fareler ikişer ikişer bu kutulara bırakılırlar. sc 0.5 mg/kg apomorfin uygulanarak 30 dakika süre ile hayvanların durumu gözlenir. Her hayvanın gösterdiği davranış şekli aşağıdaki şekilde derecelendirilir.

— Fare sürekli olarak iki ayağı üzerine dikilirse "2"

— Fare aralıklı olarak iki ayağı üzerine dikilirse "1"

— Hiçbir şekilde dikilme göstermiyorsa "0"

Yukarıdaki derecelendirmeye göre 10 hayvanlık bir grup için 20 sayılık bir değerlendirme saksimum apomorfin etkisini gösterir. Araştırılan test ilacının, yukarıdaki durumları ne şekilde etkilediğine bakılır. Nöroleptik ilaçlar apomorfinin etkisini antagonize ederler^{6,19}.

e — Yohimbin testi :

sc 30 mg/kg yohimbin klorhidrat verilen farelerden 1, 2, 4, 6 saat süre içinde ölenlerin sayısı saptılır, sonra test ilacı yohimbin ile birlikte verilerek bu sayı karşılaştırılır¹⁸.

VII — Kataleptojen Gücün Belirlenmesi :

Sıçanın, verilen anormal vücut duruşlarını değiştirmemesi haline katalepsi denir ve bir taşikinezi olayının varlığını gösterir. Bu yöntemde kataleptojen madde olarak genellikle klorpromazin kullanılır. Araştırılacak ilacın bu etkiyi önleyip önlemediğine veya artırıp artırmadığına bakılır (Nöroleptik ilaçlar hayvanlarda katalepsi oluştururlar)²⁰.

VIII — Uyku Potansiyalizasyonu Testi :

Pentobarbital veya klorhidratın fare ve sıçanda oluşturacağı uyku süresinin, araştırılacak ilaçla ne şekilde değiştiği incelenir. Hipnotik ve anti-depresif ilaçlar uyku sürelerini etkilerler⁷.

Kaynaklar

1. Boissier JR, Simon P. Action de la cafeine sur la motilite spontanee de la souris. Arch. Int. Pharmacodyn. 158:212, 1965.
2. Turne AR. Organization of acreeasing. In:Screening methods in pharmacology. New York. Academic Press, 87, 1965.
3. Fontenay M, Leconnec J, Zaczinska M, et al. Problemes poses l' utilisation de trois tests de compartement du rat pour. l' etude des medicament psychotropes. J. Pharmacol. 1 : 243, 1970.
4. Boissier JR, Simon P, Rault B. Action de quelques antihistaminiques sur le test de la bataille electrique chez la souris. Ann. Pharm. Franc. 26:277, 1968.
5. Simon P. Test de l' evasion fiche technique No. 20, J. Pharmacol, 1:109, 1972
6. Vahide S. Pharmacological study of 2-chloro-11-2-methylamino ethoxy dibenzo b, f thiepine. Arz Fors. Drug Res. 29:10, 1979.
7. Kamioka T, Nakayama I, Hara T et al. Pharmacological studies on cs-430, new psychotropic agent. Arz. Fors. Drug Res. 29, 838, 1978.
8. Boissier JR, Tardy J, Diverres JC. Une nouvelle methode simple pour explorer l' action "Tranquillisante" le test de la chemiee. Medic. Exp. 3, 81, 1960.
9. Courvosier S. Pharmacodynamic basis for the use of chlorpromazine in psychiatry. J. Clin. Exp. Psychopath. 17. 28, 1965.
10. Boissier JR, Simon P. Conditionnement d' evitement chez le rat pendant une periode prolongee. Action de l' amphetamine, de la pemoline, de la cocaine et de la cafeine. Therapie. 23, 1267, 1968.
11. Boissier JR, Cuverd C, Gaighault C. Les medicaments psychotropes. La Resherche, 116, 1235, 1980.
12. Leaf FC, Müller SA. Simple method for CER conditioning and measurement Psychol. Rep. 17, 211, 1965.
13. Vogel JR, Beer BC, Iody DE. A simple and reliable conflict procedure for testing anti-anxiety agents. Psychopharmacol, 21, 1, 1970.
14. Boissier JR, Simon P, Aron C. A new method for rapid screening of minor tranquilizers in mice. Eur. J. Pharmacol, 4, 145, 1968.

15. Yen CY, Stanger RL, Millman N. Ataractic suppression of isolation. Induced aggressive behavior. Arch. Int. Pharmacodyn. 123, 179, 1959.
16. Morpugo, C. Aggressive behavior induced by large of 2-2.6- dichlorop-henylamino-2 imidazole hydrochloride, ST-155 in mice. Eur. J. Pharmacol. 3, 374. 1968.
17. Porsolt RD, Pichon M, Jalfre M. Depression: A new animal model sensitive to antidepressant treatments. Nature, 266, 730, 1977.
18. Boissier JR, Simon P, Zaczinska M et al. Etude psychopharmacologique experimentale d'une nouvelle substance psychotrope la 2-ethylamino-6-chloro-4-methyl-4-phenyl-4 H-3,1-benzoxazine. Therapie, 2, 325, 1972.
19. Gougerot C. L' epreuve des redressement a l'apomorphine chez la souris. Son interet comme test de lection des psychotropes. J. Pharmacol. 3, 341, 1973.
20. Chermat R, Simon P. Appreciation de la catalepsie chez le rat. Fiche tesnique No : 39, J. Pharmacol 6, 493, 1975.