

Dr. Ceyda GÜLTER
Dr. Ferhan GİRGIN
Dr. Gülinnaz ALPER
Dr. Mert ÖZGÖNÜL
Dr. Gülriiz MENTEŞ
Dr. Bütan ERSÖZ

* Bu çalışma 1999 Yaşlılar Yılı "En İyi Araştırma Ödülü"nü kazanmıştır.

OZET

Yaşlanma süreci, insan popülasyonunun artan ortalama yaşam süresine bağlı olarak, yaşa bağlı mental ve motor fonksiyonlarda görülen yetersizlikler ile yaşla birlikte görülme sıklığı artan nörodegeneratif hastalıkların sayısının hızla artması nedeniyle önem kazanmıştır. Fizyolojik yaşlanma ve bazı patolojilerde görülen bu fonksiyonel bozukluklarda dopaminerjik, noradrenerjik ve serotonerjik nöronlar arasındaki bütünlüğün bozulması anahtar rol oynamaktadır. Yaşlı kişilerde izlenen mental ve motor disfonksiyonların temelinde biyojenik aminler önemli rol oynamaktadır. Monoamin oksidaz (MAO), bu biyolojik aktif aminlerin metabolizmasında anahtar rol oynayan bir enzimdir. Enzimin aktivitesi yaşlanma ve diğer nörodegeneratif hastalıklarda geniş varyasyonlar gösteren değişiklikler sergiler. Bu nedenle son yıllarda, Alzheimer ve Parkinson'u hastalar ile depresyon izlenen yaşlı popülasyonda tedavi amacıyla MAO enzim inhibitörleri yaygın olarak kullanılmaktadır. Çalışmamızda öncelikle, sıçan prefrontal korteks dokusunda fizyolojik yaşlanma sürecinde adrenalin (A), noradrenalin (NA), serotonin (5-HT), dopamin (DA) ve metabolitleri normetanefrin (NMN), 5-hidroksi indol asetik asit (5-HİAA), homovanilik asit (HVA), dihidroksifenil asetik asit (DOPAC) düzeyleri ile MAO aktivitesinde oluşan değişiklikler incelenmiştir, ikinci aşamada ise yaşlanma sürecinde MAO inhibitörlerinin kronik kullanımının biyojenik aminler ve metabolitleri üzerine etkilen araştırılmıştır. İlk olarak genç (2-3 aylık, n=15) ve yaşlanan (16-18 aylık, n = 15) sıçan gruplarında prefrontal korteks doku MAO aktivitesi ile biyojenik aminler ve metabolitleri ölçülmüştür, ikinci aşamada, genç (2-3 aylık, n=10) ve yaşlanan (16-18 aylık, n=10) sıçanlara kronik dozda (0.25 mg/kg/gün, 14 gün, I.P) MAO-B inhibitörü olan deprenil uygulanmıştır. Yaşlanan gruplarda prefrontal korteks dokusunda genç gruba karşılaştırıldığında artmış MAO enzim aktivitesi saptanmıştır (p=0.05). Yaşlanan grupta biyojenik aminlerden noradrenalin ve dopamin düzeyleri (sırasıyla p=0.03, p=0.009); metabolitlerden normetanefrin, homovanilik asit ve dihidroksifenil asetik asit düzeylerinde anlamlı yükselik saptanmıştır (sırasıyla p=0.006, p=0.001, p=0.05). Deprenil uygulaması ile genç ve yaşlanan gruplarda enzim inhibisyonu sağlanmıştır (sırasıyla %65, %76). Enzim aktivitesindeki inhibisyona rağmen plasebo ve deprenil uygulanan gruplar arasında biyojenik amin ve metabolitleri açısından anlamlı fark elde edilmemiştir.

Anahtar Sözcükler: Yaşlanma, Prefrontal korteks, Biyojenik aminler, Monoamin oksidaz, Yüksek performanslı sıvı kromatografisi.

***FİZYOLOJİK YAŞLANMA
SÜRECİNDE PREFRONTAL
KORTEKS BİYOJEN AMİNLER
ve MAO İNHİBİTÖRLERİNİN
ETKİLEŞİMİ**

**INTERACTION of the PREFRONTAL
CORTEX BIOGENIC AMINES and MAO
INHIBITORS DURING the
PHYSIOLOGICAL AGING PROCESS**

ABSTRACT

The process of aging is becoming increasingly important as the average longevity of the population increases and the number of people with both age-associated impairment and neurodegenerative diseases of old age rises sharply. The disturbed integrity of dopaminergic, noradrenergic and serotonergic neurons is considered to be the key in the impairments seen during aging and certain diseases. Underlying of the mental and motor changes observed in the elderly population, biogenic amines seem to play an important role. Monoamine oxidase(MAO) is an enzyme responsible for the inactivation of these biologically important active amines. It is one of the most investigated enzyme presumably because of its importance in biological psychiatry. The activity of MAO displays great variances in different organs during the process of aging and in the physiopathology of certain neurodegenerative diseases. Thus in the recent years, MAO inhibition is a widely used therapeutic strategy in the treatment of Alzheimer's disease, Parkinson's disease and depression seen in the elderly. The aim of our study was to determine the changes in biogenic amines, adrenalin (A), noradrenalin (NA), serotonin (5-HT), dopamine (DA), as well as in their metabolites, normetanephrine (NMN), homovanillic acid (HVA), dihydroxyphenyl acetic acid (DOPAC), 5-hydroxyindol acetic acid (5-HIAA) occurring concurrently with the changes in MAO activity of the prefrontal cortex of aging rats. We aimed to observe the effects of MAO inhibitors on altered levels of biogenic amines and their metabolites. In the first part of this study MAO activity and the levels of biogenic amines and their metabolites were measured in the prefrontal cortices of young (2-3 months old, n = 15) and aging (16-18 months old, n = 15) rats. In the second step, after chronic administration of deprenyl, MAO-B inhibitor, (0.25 mg/kg/day, 14days, I.P) the above mentioned parameters were measured in the prefrontal cortices of young (2-3 months old, n=10) and aging (16-18 months, n=10) rats. The results showed that MAO activities in prefrontal cortex were significantly higher in the aging groups (p=0.05). As for the biogenic amines elevated levels of noradrenaline and dopamine (respectively p=0.03, p=0.009); for the metabolites elevated levels of normetanephrine homovanillic acid and dihydroxyphenyl acetic acid were found in the aging groups (respectively p=0.006, p=0.001, p=0.05). Administration of MAO inhibitor resulted in no difference in the levels of biogenic amines between placebo and deprenyl groups in neither young nor aging groups. However MAO activities were significantly decreased (respectively %65, %76).

Keywords: Aging, Prefrontal cortex, Biogenic amines, Monoamine oxidase. High performance liquid chromatography.

Geliş: 15.12.1999

Kabul: 05.01.2000

Ege Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı-İZMİR

İletişim: Dr. Ceyda GÜLTER: Ege Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, 35100-Bornova/İZMİR

Tel: (0232) 343 43 43/4316

e-mail: ceyda@med.ege.edu.tr

GİRİŞ

Sağlık bilimlerinde ve medikal teknolojide sağlanan gelişmeler ve savaş yıllarının geride kalması ile 1800'lü yıllarda ortalama olarak 36 yıl olan insan ömrü günümüzde 80 yıla kadar yükselmiştir. Buna bağlı olarak 65 yaşın üstünde olan nüfus 1900'lerde toplam nüfusun %4'nü oluştururken, 1980'li yıllarda bu oran %11.6'a çıkmıştır (12). Yapılan çalışmalar, 2000 yılında A.B.D.'de her sekiz kişiden birinin 65 yaş üzerinde olacağını göstermektedir. Özellikle yaşla beraber insidansı artan kanser, demans ve motor bozuklukların tedavisi sağlık sistemlerinde büyük harcamalara yol açmaktadır. 60 yaş üzerindeki insan topluluğunun artması ile birlikte bu kişilerin daha kaliteli bir yaşama ve sağlıklı bir yapıya kavuşturulması gündemdedir. Yaşlanma sürecinde mental kapasite, sinir sistemi ve motor fonksiyonlarda gözlemlenen değişimlerin temelinde biyojen aminlerin yer aldığını savunan teoriler, bu konudaki araştırma sonuçları doğrultusunda giderek ağırlık kazanmaktadır (6,23). İlerleyen yaşla beraber kateşolaminler ve serotonin gibi biyojen aminlerin metabolizmasında meydana gelen değişiklikler, gerek deneysel, gerek insanı çalışmalarında başta beyin olmak üzere değişik dokularda ortaya konmuştur (3,11,16,28). Santral sinir sistemindeki biyojen aminlerin bellek, algılama ve öğrenme ile ilgili fonksiyonların yürütülmesindeki rolleri göz önüne alındığında, bu değişikliklerin entellektüel kapasiteye yansımaları doğaldır.

Biyojen aminlerin metabolizmasında anahtar rol oynayan monoamin oksidaz (MAO) enzim aktivitesi, etiopatogenezi tam olarak aydınlatılmamış Alzheimer ve Pick hastalığı dışında, fizyolojik yaşlanmada da organ spesifik değişiklikler göstermektedir (11,12,29). Beyin dokusunda MAO aktivitesinin önemli miktarlarda bulunması enzimin, ilişkili sub sıratlarının ve metabolitlerinin beraber araştırılması gerekli kılacaktır.

Bugün başta biyokimya ve klinik biyokimya olmak üzere temel ve klinik bilim dallarında biyojen aminlere yönelik

çalışmalar yoğun olarak yürütülmektedir. Ayrıca urodeje-neratif hastalıkların ve şizofreni gibi duygulanım bozukluklarının etiopatogenezi bu nörotransmitterlerin ve MAO enziminin öneminden sıkça bahsedilmektedir. Biyolojik psikiyatride depresyon, bunun yanı sıra Parkinson ve Alzheimer tedavilerinde yarar sağlayan MAO inhibitörlerinin, değişen biyojen amin düzeylerine bağlı olarak mental aktivite azalması ve duygulanım bozuklukları sergileyen sağlıklı yaşlı popülasyonda profilaktik kullanımı günümüzde tartışma konusudur (25). Selektif ve güçlü bir MAO-B inhibitörü olan deprenil bu açıdan ele alındığında umut verici bir farmakolojik ajandır (12).

Bu çalışmada öncelikle, yaşlanma sürecinde; yüksek eutellektüel fonksiyonların bir kısmının yer aldığı prefrontal bölgede biyojen amin (noradrenalin, adrenalin, dopamin, serotonin) ve metabolitlerinin (normetanefrin, 3,4-dihidroksifenil asetik asit, homovanilik asit, 5-hidroksi indol asetik asit) düzeyleri ile metabolizmalarında rol oynayan MAO aktivitesinin değişimleri; ikinci aşamada ise deprenilin kronik kullanımının yaşlanma sürecinde beyin dokusunda biyojen aminler üzerine olası etkisi araştırılmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Kimyasallar

EDTA, kinüramin 2 HBr, Bovin serum albumin ve biyojen amin ve metabolitlerin standartları Sigma'dan; disodyum hidrojen fosfat, potasyum dihidrojen fosfat, 4 Hidroksikino- lin, sodyum hidroksit, potasyum dihidrojen fosfat, dipota- sium hidrojen fosfat, sodyum hidroksit, NaCO₃ anhidr, soyum potasyum tartarat»4H₂O, bakır sülfat»5H₂O, sodyum molibdat«2H₂O, fosforik asit (%85), HCl (%38), lityum sülfat, brom Merck&Dramstad Co.'dan, sodyum klorür ise Riedel de Haen firmasından sağlanmıştır. MAO inhibitörü olan deprenil Koçak ilaç firmasından elde edilmiştir.

Çalışma Grupları Tablo 1'de sunulmuştur.

Tablo-1: Çalışma gruplarının özellikleri ve ilaç uygulama protokolü

Grup	n	Yaş	İlaç Uygulama Protokolü
Genç grup	n=15	2-3 aylık Swiss-Albino erkek sıçan	-
Yaşlanan grup	n=15	16-18 aylık Swiss-Albino erkek sıçan	-
Genç plasebo grup	n=10	2-3 aylık Swiss-Albino erkek sıçan	2,5 cc serum fizyolojik 14 gün intraperitoneal olarak verildi
Yaşlanan plasebo grup	n=10	16-18 aylık Swiss-Albino erkek sıçan	2,5 cc serum fizyolojik 14 gün intraperitoneal olarak verildi
Genç deprenil grup	n=10	2-3 aylık Swiss-Albino erkek sıçan	0,25/kg/gün deprenil 2,5 cc serum fizyolojik içinde 14 gün intraperitoneal olarak verildi
Yaşlanan deprenil grup	n=10	16-18 aylık Swiss-Albino erkek sıçan	0,25/kg/gün deprenil 2,5 cc serum fizyolojik içinde 14 gün intraperitoneal olarak verildi

Tüm sıçanlar standart ışık (12 saat gün ışığı/12 saat karanlık) ve ısı koşullarında (ortalama 20 C), standard diet (pelet yem) ile beslenmiştir.

Örnek Hazırlığı

Son ilaç dozundan 24 saat sonra bütün gruplardaki sıçanlar dekapite edilmiştir. Beyin dokuları soğuk serum fizyolojik ile yıkandıktan sonra disseksiyona geçilmiştir. Buz üzerindeki beyin dokusundan önce sağ ve sol olmak üzere iki hemisfer, daha sonra iki hemisferin prefrontal korteksleri disseke edilmiştir. Sağ prefrontal korteks MAO aktivitesi, sol prefrontal korteks ise biyojen amin ve metabolit tayininde kullanılmıştır. Dokular hassas terazi ile tartılmış, analiz gününe kadar -70 derecede saklanmıştır.

Metodlar

1. MAO enzim aktivite tayini için (15): Sağ prefrontal korteks fosfat tampon (KH_2PO_4 , Na_2HPO_4 , 0.5M, pH =7/0) ile (1/100, w/v) homojenizatör tüplerinde 1300 devirde (ortalama 20 vuru) buz üzerinde homojenize edilmiştir. Enzim aktivite tayini Kraml'm doku MAO yönteminin bir modifikasyonu olup fluorometrik ölçüme dayanmaktadır (5,15). Bulunan miktar mg protein başına bölünerek spesifik aktivite hesaplanmıştır (nmol/mg protein/saat).

2. Biyojen amin ve metabolitlerinin tayini için (17): Sol prefrontal korteks homojenizasyon çözeltisi (%0.025 sistem, %0.025 EDTA, HClO_4 0.15 M) ile 1 gram dokuya 5 mi olacak şekilde homojenizatör tüplerine konmuştur. Örnekler 1500 devirde (ortalama 20-30 vuru) buz üzerinde homojenize edilmiştir. Daha sonra 12000 g ve +4C'de 10 dakika santrifüj edilerek, supernatantlar ayrılmıştır.

Biyojen amin ve metabolitlerinin tayininde kromatografik bir yöntem olan yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) kullanılmıştır. Hazır örnekler 30 µl volumde injekte edilip standart okumalara karşı örnek içindeki konsantrasyonlar belirlenmiştir (analiz hesaplarında C-R6A kromatopak, Shimadzu kullanılmıştır). Sonuçlar ng/ml olarak elde edilmiş değerler doku su içeriğine göre düzeltildikten sonra ng/g yaş doku olarak hesaplanmıştır (17,33)

3. Protein tayini: Doku protein içeriği Lowry yöntemi ile ölçülmüştür (19).

İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Grupların karşılaştırılmasında Mann Whitney-U non-parametrik testi kullanılmış, işlemler SPSS ile yürütülmüştür.

BULGULAR

Genç ve yaşlanan sıçan gruplarında prefrontal korteks biyojen amin ve biyojen amin metabolit düzeyleri, MAO aktivitesine ait sonuçlar Tablo 2, 3 ve 4'de sunulmuştur.

Tablo-4: Genç ve yaşlanan gruplarda prefrontal korteks MAO aktivitesi [(nmol/mg protein/saat), (ortalama±SEM)]

	MAO Aktivitesi
Genç (n:15)	190.272±13.621
Yaşlı (n:15)	207.812±16.005

Genç grup biyojen amin düzeyleri ile karşılaştırıldığında, yaşlanan grupta prefrontal korteks noradrenalin ve dopamin düzeyleri istatistiksel açıdan yüksek saptanmıştır (sırasıyla p=0.03, p=0.009). Yaşlı gruptaki 5-HT ve A artışı anlamlı değildir (Tablo 2).

Biyojen amin metabolitlerinden NMN, DOPAC ve HVA düzeyleri yaşlanan sıçan beyin dokusunda genç gruba göre anlamlı yüksek bulunmuştur (sırasıyla p=0.006, p=0.05, p=0.001)(Tablo3),

Tablo 4'de genç ve yaşlanan gruplardan elde edilen prefrontal korteks MAO aktivitesi değerleri verilmektedir. Yaşlanan sıçan beyininde MAO anlamlı derecede yüksek bulunmuştur(p=0.05).

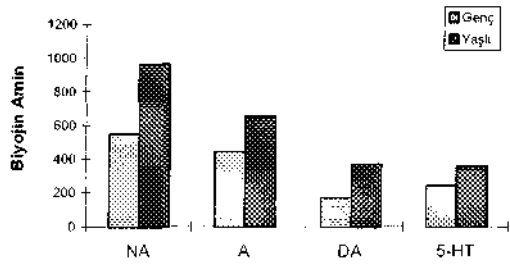
Genç ve yaşlanan gruplara ait prefrontal korteks biyojen amin ve biyojen amin metabolit düzeyleri ile MAO aktiviteleri arasındaki farklılıklar sırası ile Şekil 1, 2, 3'de görülmektedir.

Tablo-2: Genç ve yaşlanan gruplarda prefrontal korteks biyojen aminler [(ng/gram yaş doku), (ortalama±SEM)]

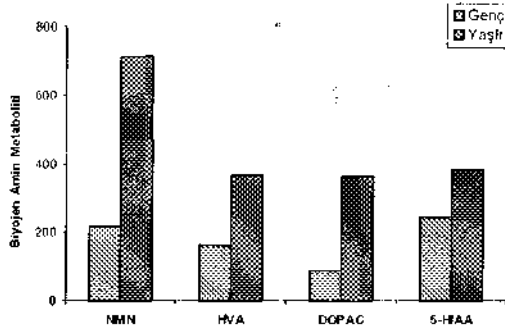
	NA	A	DA	5-HT
Genç (n=15)	554.011±153.102	449.927±112.379	173.713±15.465	246.292±45.592
Yaşlı (n=15)	965.931±152.469	656.896±146.816	372.384±57.043	365.862±100.387

Tablo-3: Genç ve yaşlanan gruplarda prefrontal korteks biyojen amin metabolitleri [(ng/gram yaş doku), (ortalama±SEM)]

	NMN	HVA	DOPAC	5-HIAA
Genç (n=15)	217.591±61.172	164.745±21.677	89.763±23.970	247.376±46.836
Yaşlı (n=15)	714.541±137.825	366.847±45.222	364.974±110.571	385.094±85.370



Şekil-1: Genç ve yaşlanan gruplarda prefrontal korteks biyojen aminler



Şekil-2: Genç ve yaşlanan gruplarda prefrontal korteks biyojen amin metabolitleri

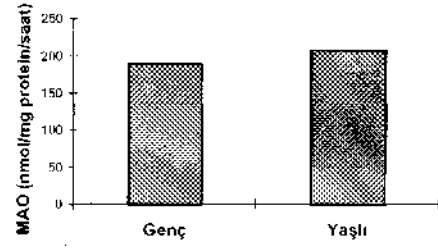
14 gün süre ile deprenil ve plasebo uygulanan genç ve yaşlanan gruplarda prefrontal korteks dokusu biyojen amin, biyojen amin metabolitleri ve MAO aktivitesine ilişkin veriler Tablo 5, 6 ve 7'de sunulmuştur.

Tablo-5: Deprenil ve plasebo uygulanan genç ve yaşlanan gruplarda prefrontal korteks biyojen aminler [(ng/gram yaş doku), (ortalama±SEM)]

	NA	A	DA	5-HT
Genç Plasebo (n= 10)	612.944±95.008	250.111±51.076	267.172±89.436	384.568±41.395
Genç Deprenil (n= 10)	491.922±138.981	307.043±103.780	271.830±48.466	543.573±80.496
Yaşlı Plasebo (n= 10)	689.263±141.295	200.449±75.503	255.422±58.646	425.462±108.650
Yaşlı Deprenil (n= 10)	726.144±183.085	363.877±146.072	309.822±55.864	462.859±97.840

Tablo-6: Deprenil ve plasebo uygulanan genç ve yaşlanan gruplarda prefrontal korteks biyojen amin metabolitleri [(ng/gram yaş doku), (ortalama±SEM)]

	NMN	HVA	DOPAC	5-HIAA
Genç Plasebo (n: 10)	343.172±89.419	206.391±29.744	407.903±105.396	282.184±68.678
Genç Deprenil (n: 10)	289.353±143.933	260.063±83.856	35.343±6.370	541.570±152.476
Yaşlı Plasebo (n: 10)	376.465±96.338	254.247±87.841	400.038±130.747	326.360±104.899
Yaşlı Deprenil (n: 10)	337.364±114.886	151.213±45.770	255.946±94.481	285.368±91.821



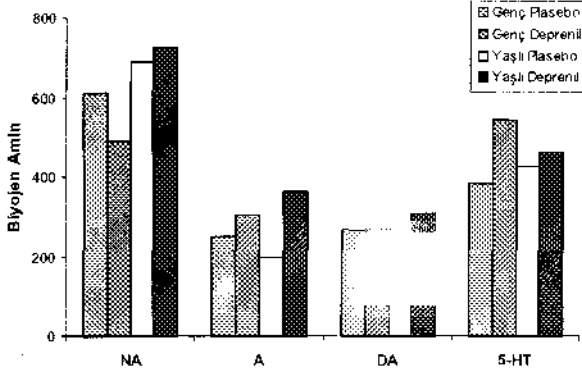
Şekil-3: Genç ve yaşlanan gruplarda prefrontal korteks MAO aktivitesi

Tablo-7: Deprenil ve plasebo uygulanan genç ve yaşlanan gruplarda prefrontal korteks MAO aktivitesi [(nmol/mg protein/saat), (ortalama±SEM)]

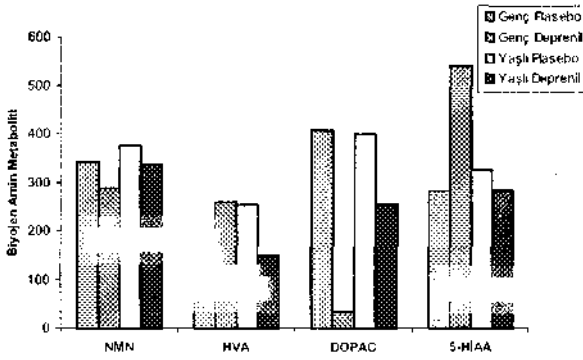
	MAO Aktivitesi
Genç Plasebo (n= 10)	217.945±15.327
Genç Deprenil (n= 10)	78.087±5.410
Yaşlı Plasebo (n= 10)	289.035±11.339
Yaşlı Deprenil (n= 10)	61.462±6.549

Deprenil uygulamasının ardından prefrontal korteks biyojen amin (Şekil 4) ve biyojen amin metabolit düzeylerinde (Şekil 5) genç ve yaşlı gruplar arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir değişim saptanmamıştır. Şekil 6'da görüleceği üzere deprenil ile hem genç hem de yaşlı gruplarda MAO enzim aktivitesinde inhibisyon sağlanmıştır. Bu inhibisyon anlamlı olup genç ve yaşlılarda sırasıyla p=0.003.

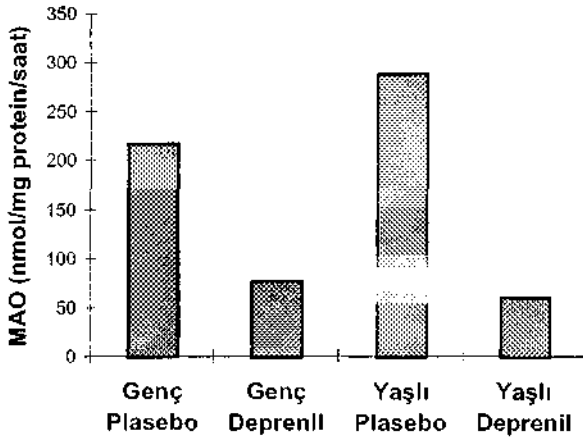
$p=0,002$ 'dir. İnhibisyon gençlerde %65, yaşlanan grupta ise %76'dır.



Şekil-4: Deprenil ve plasebo uygulanan genç ve yaşlanan gruplarda prefrontal korteks biyojen aminler



Şekil-5: Deprenil ve plasebo uygulanan genç ve yaşlanan gruplarda prefrontal korteks biyojen amin metabolitleri



Şekil-6: Deprenil ve plasebo uygulanan genç ve yaşlanan gruplarda prefrontal korteks MAO aktivitesi

Dopamin ve serotonin turn-over göstergeleri olan DA/HVA ve 5-HT/5-HIAA oranları Tablo 8'de gösterilmektedir. Oranlar gruplar arasında karşılaştırıldığında anlamlı fark saptanmamıştır.

Tablo-8: Deprenil ve plasebo uygulanan genç ve yaşlanan gruplarda prefrontal korteks dokusu dopamin ve serotonin turn over değerleri (ortalama±SEM)

	DA/HVA	5-HT/5-HIAA
Genç Plasebo (n= 10)	0.853±0.333	2.683±0.874
Genç Deprenil (n= 10)	2.475±0.846	1.681±0.414
Yaşlı Plasebo (n= 10)	2.596±1.296	2.198±0.672
Yaşlı Deprenil (n= 10)	3.503±0.883	4.286±1.785

TARTIŞMA

Biyojen aminler ve katabolizmalarında yer alan MAO enzimi algılama, öğrenme ve bellek ile ilgili işlevlerin yürütülmesinde önemlidir. Bu nedenle yaşlanma sürecinde uğradıkları değişiklikler bir çok nörodejeneratif hastalık ve çeşitli demansların etiopatogenezinde önem kazanmaktadır. Etiyolojisinde bu tür değişikliklerin ortaya konduğu Alzheimer, Parkinson, senil demans ve yaşlılık depresyonu yaşlı nüfusun fazla olduğu ülkelerde önde gelen sağlık sorunları arasındadır (22).

Çalışmamızda prefrontal kortekse ait MAO aktivitesi düzeyleri incelendiğinde, yaşlanan grupta anlamlı aktivite artışı saptanmıştır ($p<0,05$). Bu bulgumuz insan beyni temporal ve frontal korteksinde yaşa bağlı MAO-B aktivite artışı gösteren Sparks D.L.ve arkadaşlarının sonuçları ile uyumludur (24). J.T Mamı ve arkadaşları ise beyinde yaşla beraber sadece MAO-B izoformunun arttığını, MAO-A'da herhangi bir değişiklik gözlemlenmediğini bildirmişlerdir (12). Artan yaşla birlikte görülen MAO-B aktivite artışının nedeni beyinde azalan nöronların yerini astrositlerin almasına bağlanmaktadır, çünkü astrositler özellikle MAO-B aktivitesi açısından zengindir.

Çalışmamızda yaşlanan ve plasebo uygulanan yaşlanan gruplar arasında anlamlı MAO aktivite farkı bulunması, bu konuda geniş çalışmaları olan Vogel ve arkadaşlarının aynı bireyde bölgeler arası MAO-B aktivitesinin farklı olduğunu, aynı bireylerde aynı bölgelerde MAO-A'nın çarpıcı farklılıklar gösterdiğini ortaya koyan savını desteklemektedir (30). Bu sonuç her iki izozimin birbirinden bağımsız olarak düzenlendiği teorisine destek vermektedir. Bazı araştırmacılar enzimin yaş, cinsiyet,ve hücredeki lipid içeriğinden etkilendiğini göstermiştir (3,7,20). Ayrıca hem biyojen aminler hem de MAO aktivitesi gün içinde değişiklikler göstermektedir. Bu nedenle bu çalışmada erkek sıçanlar kullanılmış ve dekapitasyon işlemleri tüm gruplar için günün aynı saatinde gerçekleştirilmiştir.

Son yıllarda anksiyete bozuklukları, depresyon, şizofreni ve Alzheimer hastalığında özellikle beyin dokusunda biyojen amin ve metabolitlerinin değişen konsantrasyonlarının farkına varılması, senil demans dahil bazı nörodejeneratif hastalıkların etiyojisinde rol oynayabileceklerini düşündürmektedir (8,18).

İncelediğimiz ilk biyojen amin olan dopamin, Parkinson hastalığının etiopatogenezinde oynadığı rol ile dikkatleri çekmiştir. Yaşlanma ile dopaminerjik sistemde hem moleküler hem de anatomik düzeyde değişiklikler izlenir. Örneğin striatumda hücre kaybına ek olarak dopamin sentezinde rol oynayan tirozin hidroksilaz aktivitesi ve dopamin taşıyıcı sistemlerde genel bir düşüş görülür (22). Yaşlanan ve genç gruplarımızın prefrontal korteks dopamin değerleri karşılaştırıldığında, yaşlanan grupta artmış dopamin düzeyleri saptanmıştır ($p<0.009$). Bu artış sağlam kalan nöronlarda dengeleyici bir işlev artışı ile açıklanabilir.

Prefrontal korteks dopamin innervasyonunun klinik önemi bellek yetisinin devamı ile ilişkilidir (26). Maymunlarda yapılan bilişsel çalışmalarda oluşturulan dopamin hipofonksiyonu deneklerde bellek ile ilgili performansı düşürmektedir (32). Bu nedenle senil demans ile birliktelik gösteren Alzheimer hastalığında beyin dokusu dopamin içeriğinin önem taşıdığı düşünülmüş ve bu tür hastalarda dopamin içeren hücre sayısı azalmaksızın ortaya çıkan fonksiyona! bir hipodopaminerjik durumdan söz edilmektedir (22). Dopamin metabolitleri olan HVA ve DOPAC değerleri incelendiğinde yaşlanan grupta artmış DOPAC ve HVA (sırasıyla $p=0.05$, $p=0.001$) seviyeleri elde edilmiştir. Artmış MAO aktivitesine paralel görünen metabolit artışı, DA seviyelerinin de yükselmesi nedeniyle turn-over hızına yansımıştır.

Yaşlanma sürecinde değişimi incelenen diğer bir biyojen amin olan noradrenalin senil demansını yanı sıra demansla birliktelik gösteren bazı nörodejeneratif hastalıklarda da mental kapasitenin azalmasında rol oynamaktadır (12,31). Yaşlanan gruba ait artmış noradrenalin düzeyleri Venero ve grubunun sonuçları ile uyumludur(29). Artmış MAO aktivitesine karşı NA düzeyinin artışı dopaminle olduğu gibi kompenzatuvar bir mekanizma ile açıklanabilir. Artan MAO aktivitesi ile NA ve A'nin metaboliti olan NMN düzeyleri yaşlanan grupta daha yüksek bulunmuştur ($p=0,006$).

Serotonin bellek ve öğrenmede olduğu kadar beyinde uyku, ağrı algılanması ve sosyal davranış ile ilişkilendirilen bir amin olup migren patogenezindeki yeri nedeniyle önemlidir. Yaşlanma sürecindeki insan beyni serotoninergik nöron değişiklikleri hakkında literatürde çok az bilgi yer almaktadır. Serotonin daha çok MAO-A tarafından katabolize edildiğinden yaşlanma ile hem kendisi hem de metaboliti olan 5-HIAA konsantrasyonları pek değişikliğe uğramaktadır (25). MAO-A'nın yaşla beraber değişikliğe uğra-

madığı kabul edilmektedir. Çalışmamızda da yaşlanan ve genç grup arasında serotonin ve metaboliti açısından anlamlı fark bulunamamıştır. Son yıllarda Alzheimer demans hastalarda yapılan post-mortem çalışmalarda 5-HT ve 5-HIAA konsantrasyonlarında azalma gösterilmiştir (J).

Seçici MAO inhibitörleri günümüzde depresyon, Parkinson ve Alzheimer hastalığında tedavi amaçlı kullanılmaktadır. Çalışmamızda klinikte yaygın olarak kullanılan MAO-B'nin geri dönüşümsüz spesifik inhibitörlerinden deprenil tercih edilmiştir (2,12,14). Kronik deprenil uygulamalarının Parkinson'da görülen dopaminerjik nöron ölümünü yavaşlatması ve Alzheimer demans hastalarda mental performansı artırması ilacın yaşlı popülasyonda profilaktik kullanımını gündeme getirmiştir (13). Bu çalışmada MAO inhibisyonu amacıyla 14 gün boyunca deprenilin 0,25 mg/kg/gün dozları uygulanmıştır. Daha önceki çalışmalarda bildirildiği gibi, yaptığımız ön çalışmalarda da 14 günlük kronik deprenil uygulamasının MAO inhibisyonu için yeterli olduğu gösterilmiştir (10). 14 gün sonunda deprenil uygulanan gruplarda MAO enzim aktivitesi hızlı bir düşüş göstermiştir. Yaşlanan grupta inhibisyon %76 iken, genç grupta plaseboya göre %65 oranında bir inhibisyon sağlanmıştır.

Enzim inhibisyonuna rağmen plasebo ve deprenil uygulanan genç ve yaşlanan grupların biyojen amin ve metabolitleri düzeyi karşılaştırıldığında istatistiksel anlamı olmayan farklar elde edilmiştir. MAO izozimlerinin substratlara karşı göreceli afinite gösterdiği bilinmektedir (25,27). Çalışmamızda gerçekleştirilen MAO-B inhibisyonu MAO-A'nın substrata ilgisini artırarak olası değişiklikleri maskeleyebilir.

Biyojen aminler ve metabolitlerinin salt konsantrasyon ölçümlerinden ziyade substrat metabolit oranı olarak tarif edilen turn-over hızı biyojen aminlerin fonksiyona! aktivitesi hakkında daha güvenilir bilgi vermektedir, çünkü artmış sentez hızına rağmen sabit hatta azalmış amin konsantrasyonları elde edilebilir (4,29). Buradan yola çıkarak dopamin ve serotonin için hesapladığımız turn-over hızları karşılaştırıldığında deprenil ve plasebo uygulanan gruplarda anlamlı fark saptanmamıştır. Bu bulgularımızı destekler şekilde sağlıklı bireylerde MAO inhibisyonunun dengeleyici mekanizmaların araya girmesi ile amin konsantrasyonlarında çok az değişikliğe yol açtığına değinilmektedir (21).

Sonuç olarak fizyolojik yaşlanma sürecinde prefrontal beyin dokusunda yaşla artan MAO enzim aktivitesi ve ilişkili olarak doku biyojen amin ve metabolitleri düzeylerinde anlamlı değişiklikler saptanmıştır. Bu bulgular yaşlanma ile ortaya çıkan bazı entellektüel ve motor disfonksiyonları açıklayıcı olabilir. MAO inhibitörlerinin kronik kullanımının öğrenme ve bellek gibi yüksek kortikal fonksiyonlarda belirgin düzelmeye yol açabilmesi bu farmakolojik ajanların geriatrik tedavi stratejilerinde kullanımı konusunda umut vaat etmektedir. Bugün için biyojen aminler üze-

rine yapılan çalışmalarda kullanılan denek türünün, yaş, beslenme, yaşama koşulları ve ölçüm metodlarının standart olamaması elde edilen verilerin karşılaştırılarak ortak bir sonuca gidilmesini engellemektedir(9). Bu nedenle yaşlı popülasyonunun hızla arttığı günümüzde katçolamin metabolizmasına ışık tutacak daha ileri çalışmaların mümkün olduğu kadar standardize edilmiş koşullarda yürütülmesi gerekmektedir.

Bu çalışmanın gerçekleştirilmesinde değerli katkılarından dolayı; Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı Merkez Araştırma Laboratuvarı'nda görevli Kim.Yük.Müh.Gülğün Keçecioglu'na teşekkür ederiz.

KAYNAKLAR

1. Arai H, Kosaka K, Iizuka R, Changes of Biogenic Amines and Their Metabolites in Post-mortem Brains from Patients with Alzheimer-type Dementia. *JNeurochem*, 1984; 43:388-393.
2. Archer JR, Harrison DE, Deprenyl Treatment in Aged Mice Slightly Increases Life Spans and Greatly Reduces Fecundity in Aged Males. *J Gerontol Biol Sci Med Sci*, 1996; 51(6):B448-53.
3. Bhaskaran D, Radha E, Circadian Variations in the Monoamine Levels and MAO Activity in Different Regions of the Rat Brain as a Function of Age. *Exp Gerontol*, 1984; 19:153-170.
4. Burtis C, Ashwood E, Tietz Textbook of Clinical Chemistry, Second Edition, 1994, Saunders Company, USA.
5. Büyükoztürk A, Kanit L, Ersöz B, Mentş G, The Effects of Hydergine on the MAO Activity of the Aged and Adult Rat Brain. *Europ Neuropsychopharmacol*, 1995; 5:527-29.
6. Carlsson A, Perspectives on the Discovery of Central Monoaminergic Neurotransmission. *AnnRevNeurosci*, 1987; 10:19-40.
7. Chevillard C, Barden N, Saavedra MJ, Twenty-Four Hour Rhythm in Monoamine Oxidase Activity in Specific Areas of the Rat Brain System. *Brain Res*, 1981; 223:205-209.
8. Drachman DA, Aging and the Brain: A New Frontier. *Ann Neurol*, 1997; 42:819-28.
9. Felten DL, Felten SY, Steece-Collier K, Dare I, Age Related Changes in the Dopaminergic Nigrostriatal System: The Oxidative Hypothesis and Protective Strategies. *Ann Neurol*, 1992; 32:S133-136.
10. Girgin KF, Yaşlanmada Monoamin Oksidaz inhibitörlerinin Sıçan Kalp Dokusunda Oksidan Stres ve Antioksidan Sistemlere Etkileri. 1996, Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı Doktora Tezi.
11. Hadfield MG, Milio C, Regional Brain Monoamine Levels and Utilization in Middle-Aged Rats. *Life Sci*, 1990; 46:295-299.
12. Kaplan H, Sadok B, Comprehensive Textbook of Psychiatry/VI. Fifth Edition, 1995, Williams and Wilkins, Maryland.
13. Keyser J, Ebinger G, Vauquelin G, Age-related Changes in the Human Dopaminergic System. *Ann Neurol*, 1990; 27:157-161.
14. Knoll J, Pharmacological Basis of the Therapeutic Effect of Deprenyl in Age Related Neurological Diseases. *Med Res Rev*, 1992; 12(5):505-24.
15. Kraml M, A rapid Fluorometric Determination of MAO. *BiochemPharmacol* 1965; 14:1684-86.
16. Lai JCK, Leung TKC, Lim L, Monoamine Oxidase Activities in Liver, Heart, Spleen and Kidney of the Rat. *Exp Gerontol*, 1981; 17:219-225.
17. Lee Chin JR, Determination of the Catecholamines and Serotonin, Their Precursors Tyrosine and Tryptophan, and Their Main Metabolites in Rat Brain Using Reversed-Phase HPLC with Fluorimetric and Oxidative Amperometric Detection in Series. *J Chromatog*, 1992; 578:17-30.
18. Lopez-Ibor JJ, Serotonin and Psychiatric Disorders, *Int Clin Psychopharmacol*, 1992; 7(2):5-11.
19. Lowry OH, Protein Measurement with the Folin Phenol Reagent. *J Biol Chem*, 1951; 193:265-275.
20. Murphy MP, Wu PH, Milgram NW, Ivy GO, Monoamine Oxidase Inhibition by L-Deprenyl Depends on Both Sex and Route of Administration in the Rat. *Neurochem Res*, 1993; 18(12):1299-1304.
21. Oreland L, Monoamine Oxidase, Dopamine and Parkinson's Disease, *Acta Neurol Scand*, 1991; 84(136):60-65.
22. Palmer AM, DeKosky ST, Monoamine Neurons in Aging and Alzheimer's Disease. *J Neural Transm*, 1993; 91:135-159.
23. Pantehs C, Barnes TRE, Nelson HE, Tanner S, Weatherley L, Frontal-Striatal Cognitive Deficits in Patients with Chronic Schizophrenia, *Brain*, 1997; 120:1823-1843.
24. Sparks L, Hunsaker JC, Slevin JT, DeKosky ST, Monoaminergic and Cholinergic Synaptic Markers in the Nucleus Basalis of Meynert: Normal Age-related Changes and the Effect of Heart Disease and Alzheimer's Disease. *Ann Neurol*, 1992; 31:611-620.
25. Strong R, Neurochemical Changes in the Aging Human Brain. *Geriatrics*, 1998; 53(1):S9-S12.
26. Tanila H, Taira T, Piepponen TP, Effect of Sex and Age on Brain Monoamines and Spatial Learning Patterns. *Neurobiol Aging*, 1994; 15(6):733-41.
27. Tipton KF, Benedetti SM, Dostert P, Developmental Aspects of the Monoamine-Degrading Enzyme Monoamine Oxidase. *DevPharmacolTher*, 1992; 18:191-200.
28. Tipton KF, Mantle JT, Garret JN, The Development of MAO in Rat Liver and Brain. *FEES Letters*, 1976; 64(1):227-30.
29. Venero JL, Machado A, Cano J, Effect of Aging on Monoamine Turnover in the Prefrontal Cortex of Rats. *Mech Ageing Dev*, 1993; 72:105-118.
30. Vogel VH, Gentile NT, Inter and Intraindividual Differences in Monoamine Oxidase A and B Activities in Human Central and Peripheral Tissues. *Biochem Med*, 1983; 29:392-97.
31. Volkow ND, Ding YS, Fowler JS, Wand GJ, Logan J, Dopamine Transporters Decrease with Age. *J Nucl Med*, 1996; 37:554-59.
32. Watanabe M, Kodama T, Hikosaka K, Increase of Extracellular Dopamine in Primate Prefrontal Cortex During a Working Memory Task. *J Neurophysiol*, 1997; 78:2795-98.
33. Wynsberghe D, Noback RC, Carola R, Human Anatomy and Physiology Third Edition. 1995, ABD, McGraw Hill Inc.