

# Marpotilin'in $Na^+ - K^+ / Mg^{++}$ ATPaz ve $Ca^{++} / Mg^{++}$ ATPaz Enzimlerine Olan Etkisi

ACTION OF MAPROTILIN  
ON THE ERYTHROCYTE MEMBRANE  
 $Na^+ - K^+ / ATPase$  and  $Ca^{++} / Mg^{++} / ATPase$

Turgay İSBİR

Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi  
Biyokimya Anabilim Dalı, Adana

Q811» Mitiii: IS Oeak 1965

## ÖZET

**Bu çalışmada depressif hastalara ait eritrosit zarlarında  $Na^+ - K^+ / Mg^{++}$  ATPaz ve  $Ca^{++} / Mg^{++}$  ATPaz enzimlerine ait spesifik aktivite değişimleri incelenmiştir.**

**Depressif hastalarda düşük olduğu saptanan  $Na^+ - K^+ / Mg^{++}$  ATPaz enzimine ait spesifik aktivitesi maprotilin tedavisi uygulanması sonucu kontrol değerlerine yaklaştığı saptanmıştır.  $Ca^{++} / Mg^{++}$  ATPaz enzimine ait spesifik aktivitenin ise maprotilin uygulama sonucu istatistiki açıdan önemli olan bir azalış göstermiştir.**

**Anahtar kelimeler:** Maprotilin, adenosin-5'-trifosfaz, eritrosit zarı, depresyon

T Kl Tıp BM Araştırma Der. C.3. S.3, 241-245, 1985

## SUMMARY

**The effects of maprotilin administration on erythrocyte membrane  $Na^+ - K^+ / Mg^{++}$  ATPase, and  $Ca^{++} / Mg^{++}$  ATPase activities of depressive patients were investigated (cd).**

**$Na^+ - K^+ / Mg^{++}$  ATPase that was decreased in depressive patients, rose close to normal levels following Maprotilin treatment. On the other hand,  $Ca^{++} / Mg^{++}$  ATPase activity showed a significant decrease after the treatment**

**Key words:** Maprotilin, adenosine-5'-triphosphatase, erythrocyte membrane, depression

T J Research Med Sci V.3, N.3, 241-245, 1985

Dépressif hastalıkların tedavisinde tetrasiklik antidepressifler grubundan olan maprotilin sistematik bir şekilde kullanılması 1972'de Delini tarafından başlatılmıştır (1).

Maprotilin sistematik bir şekilde tedavide kullanılmaya başlamasından sonra araştırmacıların ilgileri etki mekanizmasını araştırmaya doğru yönelmiştir (2). Maprotilin etki mekanizmasını açıklamaya yönelik çalışmalar genellikle katekolaminlerin metabolizmaları üzerinde yoğunlaşmıştır. Nitekim bu alanda yapılan araştırmalar sonucu maprotilin trisiklik antidepressiflere benzer bir şekilde reseptörün katekolaminin etkisini, tetrabenozinin katekolaminin depolarım boşaltıcı etkisini ve 4 alfa tetrametatriaminin beden ısısı m yükseltici etkisini önlediği anlaşılmıştır (3-5). Ayrıca sinir hücrelerinde maprotilin nor-adrenalinin geri alınımını azalttığı rapor edilmiştir (2-4). Diğer taraftan depressif hastalıkların etiolojilerinin açıklanmasında elektrolit-katekolamin dengesinin özellikle sodyum taşınmasının önemli bir yer tuttuğu 1969 yılında Coopen tarafından ileri sürülmüştür (5).

Sinir dokusunda bu sistemlerin kontrolünün aktif iransporl sistemiyle gerçekleştiği çeşitli araştırmacılar tarafından gösterilmiştir. Şöyle ki, Adenosin-5'-trifosfaz enzimi (ATPaz EC 3.6.1.3) aktif transport sisteminin ana kontrol enzimlerinden biridir (6, 7). ATPaz tek değerli (sodyum, potasyum) ve iki değerli (magnezyum ve kalsiyum) katyonlar tarafından aktive edilmektedir. Naylor ve arkadaşları (8) mani ve depresyonlarda normalde düşük olan sodyum iyonlarının transportunda sorumlu ATPaz enziminin ( $Na^+ - K^+ / Mg^{++}$  ATPaz) iyileşme ile orantılı olarak kontrol grubuna ait değerlere yaklaştığını rapor etmiştir. Araştırmacı bu bulgusuna dayanarak mani ve depresyon hastalıklarının etyolojisinde ATPaz enzim sisteminin önemli olabileceği görüşünü ileri sürmüştür, ayrıca sinir dokusunda katekolaminlerin sentez, depolanma, salıverilme gibi olayların gerek normal gerekse patolojik koşullarda aktif transport sistemi ile gerçekleştiği savı Swanson Stanl (9), Fuxe (10) tarafından ileri sürülmüştür.

Yaptığımız literatür çalışmalarında maprotilin

ATPaz enzimine etkisini gösteren bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bundan dolayı maprotilin etkisi ile ATPaz enzimi sistemi arasında bugüne kadar ilişki kurmak mümkün olmamıştır.

Yukarıda özetlenen bilgilerin ışığı altında, çalışmamızda maprotilin'in Na<sup>+</sup> - K<sup>+</sup> / Mg<sup>2+</sup> ATPaz ve Ca<sup>2+</sup> / Mg<sup>2+</sup> ATPaz enzimlerine olan etkisini göstermeyi amaçladık.

## MATERYAL VE METOD

Çalışma on sağlıklı, on depresyonlu hasta üzerinde yapılmıştır.

Eritrosit zarı hazırlanmasında kullanılan kan örnekleri Ç.Ü. Tıp Fakültesi psikiyatri kliniğinde yatan, depresyon teşhisi konan ve bu nedenle 10, 30 ve 60 gün süre ile maprotilin tedavisine alınan olgulardan alınmıştır. Kontrol grubu ise hastalık belirtisi olmayan sağlıklı kişilerden seçilmiştir. Her iki gruba ait kan örnekleri hafif bir kahvaltıdan sonra sabah saat 9.30 -10.30 arasında alınmıştır.

Ayırıcıların hazırlanmasında kullanılan kimyasal maddeler Analar kalitede olup BDH., Sigma ve Merck firmalarından temin edilmiştir.

### Eritrosit Zarının Hazırlanması:

Eritrosit zarının hazırlanması için Dick ve arkadaşlarının (11) tavsiye ettikleri yöntem kullanılmıştır.

Heparin içine alınan 10 ml taze kan oda sıcaklığında, (1000 x g) de 4 dakika santrifüj edilmiştir. Santrifüj işleminden elde edilen eritrosit pelleti 6-10 ml yıkama çözeltisi (5 mM Tris tamponu pH 7.4 ve 156 mM NaCl) ile muamele edildikten sonra (1000 x g)'de yeniden 4 dakika santrifüj edilmişlerdir. Bu işlem "buffy coat"lar ortamdaki uzaklaştırılana kadar tekrarlanmıştır (yaklaşık üç defa). Yıkama işlemleri sonunda elde edilen eritrosit pelleti 10 mM Tris tamponu pH 7.4 kullanılarak yaklaşık % 40 hematokrite getirilmişlerdir. Bu amaç için 6 ml hücre süspansiyonu 34 ml tampon ile karıştırılmış ve karışım 0°-4°'de 15 dakika bekletilmiştir. Burada dikkat edilmesi gereken nokta aynı kalitede zar elde edebilmek için santrifüj işlemini 9-10°C'de yapmaktır. Santrifüjasyon işleminden sonra elde edilen zar pelleti 10 mM Tris-HCl pH 7.4 ile karıştırılarak (28.000 x g'de 105 dakika tekrar santrifüj edilmiştir. Bu işlem beyaz-pembe renkte eritrosit zar elde edilinceye kadar en az üç defa tekrarlanmıştır. Elde edilen eritrosit zarı 10 mM Tris HCl pH 7.4 tamponu içine alınmış ve enzim aktivitesi ölçümüne kadar—4°'de saklanmıştır.

### Adenozin 5'-Trifosfaz Enzim Aktivitesinin Ölçülmesi:

ATPaz enziminin spesifik aktivitesi Reading ve İsbir (1980) tarafından önerilen yöntemle göre saptan-

mıştır (12). Enzim aktivitesi ortama eklenen 3 mM disodyum adenozin trifosfat'tan (Na<sup>+</sup>, ATP) enzimin açığa çıkardığı inorganik fosfatın ölçülmesi ilkesine dayanmaktadır.

İnkübasyon ortamı Reading ve İsbir (1980) tarafından önerilen koşullara göre hazırlanmıştır (12).

### İnkübasyon Ortamı:

(a) Na<sup>+</sup> - K<sup>+</sup> / Mg<sup>2+</sup> ATPaz için (nmol<sup>-1</sup>min<sup>-1</sup>): NaCl 100, KCl 5; MgCl<sub>2</sub> 6, EDTA 0.1, Tris Tampon pH 7.4 30, ATP 3.

(b) Ca<sup>2+</sup> / Mg<sup>2+</sup> ATPaz için (nmol<sup>-1</sup>min<sup>-1</sup>): MgCl<sub>2</sub> 6, CaCl<sub>2</sub> 0.15, EDTA 0.1, Tris Tampon pH 7.4 135, ATP 3. İnkübasyon ortamının total hacmi 2.5 ml olup total iyonik kuvvet 144.1 mM olacak şekilde düzenlenmiştir.

Numune, standart ve körleri içeren karışımlar 37°C'de ve 30 dakika inkübe edilmişlerdir. İnkübasyon başında ortama katılan 3 mM ATP'den açığa çıkan inorganik fosfatın ölçülmesi Reading ve İsbir (1980) tarafından önerilen yöntemle göre yapılmıştır (12). Yöntem ATP'den ayrılan inorganik fosfatın Cirrasol-ALN-WF (Lubrol) fosfomolibdat ile kompleks oluşturması ilkesine dayanmaktadır. Reaksiyonlar buz içerisine konarak durdurulmuştur. Her bir mililitresine iki mililitre Cirrasol-Molibdat ayırıcı katıldıktan sonra 10 dakika oda sıcaklığında bekletilmişlerdir. Elde edilen kompleks 390 nm'de ayırıcı körüne karşı Beckman DU Spektrofotometresinde okunarak değerlendirilmişlerdir. İnorganik fosfat değerleri 0.1 M dihidrojen fosfat standardı kullanılarak çizilen eğri-nin yardımı ile saptanmıştır.

Numunelerin içerdiği proteinler ise Lowry ve arkadaşları (13) tarafından önerilen yöntemle göre yapılmıştır. Protein değerleri standart bovine serum albumini kullanılarak çizilen protein eğrisinden saptanmıştır.

ATPaz enzimine ait spesifik aktivite değerleri ise nMpi/s/mg protein olarak gösterilmiştir.

## BULGULAR

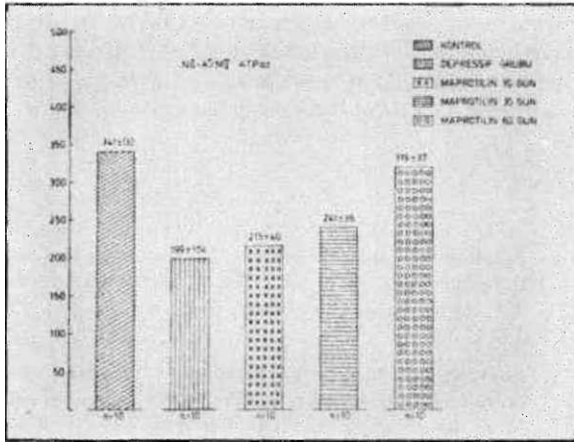
Depressif hastalara ait eritrosit zarı Na<sup>+</sup> - K<sup>+</sup> / Mg<sup>2+</sup> ATPaz enzimine ait spesifik aktivite değişimlerinin kontrol grubu ile kıyaslanması Şekil-1'de gösterilmiştir. Depressif hastalara ait eritrosit zarı Na<sup>+</sup> - K<sup>+</sup> / Mg<sup>2+</sup> enzimi spesifik aktivite (199 ± 132 nMpi/s/mg protein) daha düşük bulunmuştur. Enzim spesifik aktivitesinde gözlenen bu düşüşün istatistikî açıdan önemli olduğu gözlenmiştir (p < 0.01).

Maprotilin tedavisine alınmış olgularda tedavi süresine bağlı ATPaz enzimi spesifik aktivitesine ait değişimler Şekil-1'de görülmektedir. Düzenli maprotilin tedavisine alınmış (10 gün, 30 gün ve 60 gün) depresyonlu olgularda normalde düşük olan Na<sup>+</sup> - K<sup>+</sup> / Mg<sup>2+</sup>

ATPaz enzimi spesifik aktivitesinin artış gösterdiği gözlenmiştir. Bu artışın derecesi tedavinin 30'uncu ve 60'ıncı günlerinde istatistiki açıdan önemli olduğu saptanmıştır (p < 0.01).

Dépressif hastalara ait eritrosit zan Ca<sup>2+</sup>/Mg<sup>2+</sup> ATPaz enzimine ait spesifik aktivite değişimlerinin kontrol grubu ile karşılaştırılması Şekil-2'de verilmiştir.

Depresyonlu hastalarda eritrosit zan Ca<sup>2+</sup>/Mg<sup>2+</sup> ATPaz enzimi spesifik aktivitesi (614 ± 190 nMPi/s/mg protein) kontrol grubuna oranla (591 ± 248 nMPi/s/mg protein) istatistiki açıdan önemli olan bir artış göstermiştir. Ca<sup>2+</sup>/Mg<sup>2+</sup> ATPaz enzimi spesifik aktivitesinde gözlenen bu artış düzenli maprotilin (10'uncu, 30'uncu ve 60'ıncı günlerinde) uygulanması sonucu sırasıyla 461 ± 32, 392 ± 17 ve 360 ± 16 nMPi/s/mg protein değerleri bulunmuştur. Ca<sup>2+</sup>/Mg<sup>2+</sup> ATPaz enzimi spesifik aktivitesinde maprotilin tedavisine bağlı olarak gözlenen bu düşüşün istatistiki açıdan önemli olduğu saptanmıştır (p < 0.01).

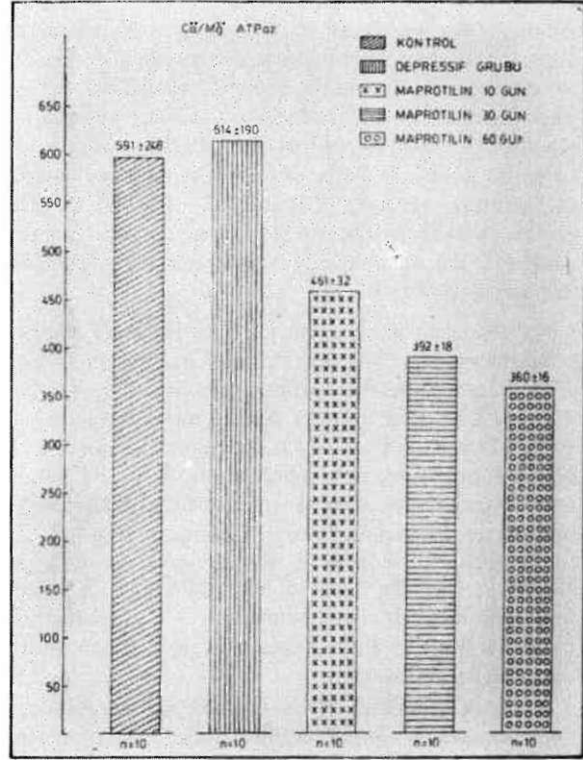


Şekil-1. Maprotilin uygulaması sırasında Na<sup>+</sup> - K<sup>+</sup> / Mg<sup>2+</sup> ATPaz enzimi spesifik aktivitesinin zamana bağlı değişimlerinin kontrol ve depresyonlu gruplarla karşılaştırılması. Şekildeki değerler ortalama değer t standart sapma olarak verilmiştir. Gruplar arası önem kontrolü 't' testi ile incelenmiştir. 'n' numune sayısı.

## TARTIŞMA

Bu çalışmamızda 10 gün, 30 gün ve 60 gün süre ile maprotilin tedavisine alınan olgularda eritrosit zarında ATPaz enzim sistemi değişimleri incelenerek bilinenlere ek yeni bir takım deliller elde edilmiş ve delillerin ışığı altında maprotilinin enzim sistemine etkisi tartışılmıştır.

Dépressif hastalara ait kan örneklerinden hazırlanan eritrosit zarlarında Na<sup>+</sup> - K<sup>+</sup> / Mg<sup>2+</sup> ATPaz, Ca<sup>2+</sup> / Mg<sup>2+</sup> ATPaz enzimlerinin spesifik aktiviteleri kontrol



Şekil-2. Maprotilin uygulaması sırasında Ca<sup>2+</sup> / Mg<sup>2+</sup> ATPaz enzimi spesifik aktivitesinin zamana bağlı değişimlerinin kontrol ve depresyonlu gruplarla karşılaştırılması. Şekildeki değerler ortalama değer t standart sapma olarak verilmiştir. Gruplar arası önem kontrolü 't' testi ile incelenmiştir. 'n' numune sayısı.

grubu ile karşılaştırıldığında ilginç değişimler gözlenmiştir. Şöyle ki:

Dépressif özellik gösteren olgularda eritrosit zan Na<sup>+</sup> - K<sup>+</sup> / Mg<sup>2+</sup> ATPaz enzimine ait spesifik aktivitedeki azalma kontrol grubuna oranla istatistiki açıdan önemli bulunmuştur. İncelenen her iki grupta cinsiyet ve yaş ayırımı yapılmamıştır.

Depresyonlarda eritrosit zarı Na<sup>+</sup> - K<sup>+</sup> / Mg<sup>2+</sup> ATPaz'ın spesifik aktivitesinde değişikliğe neden olabilecek görüşler şöyle özetlenebilir. Naylor ve arkadaşları (8) haleti ruhiye ile eritrosit zan Na<sup>+</sup> - K<sup>+</sup> / Mg<sup>2+</sup> ATPaz'ın spesifik aktivitesi değişmesini haftalarca incelemişlerdir. Araştırmacılar, Harris ve Kellermeyer (14) tarafından önerilen eritrosit ömrünü de dikkate alarak değişimin enzim aktivasyonunu ve inhibisyonu ile ilgili olabileceği fikrini ileri sürmüşlerdir. Ancak araştırmacılar aktivatör ve inhibitör maddelerinin özelliklerini ve yapılarını açıklayamamışlardır. Coopen ve Shaw (15) depresyonda çeşitli endokrin değişikliklerinin meydana gelebileceğini rapor etmiştir. Bu noktadan hareket eden Schwartz, Lindenmeyer ve Allen (7) 3-5'-cAMP tiroid hormon, adrenokortikosteroidlerin Na<sup>+</sup> - K<sup>+</sup> / Mg<sup>2+</sup> ATPaz enziminin spesifik aktivitesine

etki ettiğini göstermişlerdir. Ancak depresyonda gözlenen ATPaz enzimine ait değişmelere hormonların etkisi henüz tam anlamıyla açıklanamamıştır. Hokin ve arkadaşları (16) manik dépressif hastaların etyolojisinde gözlenen değişmelerin genetik bir anormallik olabileceği fikrini ileri sürmüştür. Ancak yapılan araştırma bu görüşü açıklığa kavuşturacak düzeyde değildir. Whittam ve Ager (17) ise Na<sup>+</sup> - K<sup>+</sup>, Mg<sup>++</sup> ATPaz enzimi spesifik aktivitesinde gözlenen azalmanın nedeni, sodyum aktif transportunda aramak gerektiğini ileri sürmüşlerdir.

Bulgularını sunduğumuz bu çalışmada depresyonlarda eritrosit zarı Na<sup>+</sup> - K<sup>+</sup>/Mg<sup>++</sup> ATPaz enziminin spesifik aktivitesinde meydana gelen azalmanın genetik veya hormonal bir olay sonucu meydana gelip gelmediği tam anlamıyla anlaşılamamıştır. Burda gerçek olan tek nokta depresyon etyolojisinde Na<sup>+</sup> - K<sup>+</sup>/Mg<sup>++</sup> ATPaz enziminin spesifik aktivitesinin azalması ile sodyumun aktif transportunun önemli olduğudur.

Maprotilin tedavisine alman olgularda eritrosit zarı Na<sup>+</sup> - K<sup>+</sup>/Mg<sup>++</sup> ATPaz enziminin spesifik aktivitesi tedavinin 10'uncu gününde % 7.8, 30'uncu gününde % 20.6 ve 60'ıncı gününde ise % 60 oranında bir yükseliş gözlenmiştir.

Ancak tedavinin 30 ve 60'ıncı günlerinde gözlenen yükseliş istatistiki açıdan önemli bulunmuştur (p<0.01).

Maprotilin tedavisi sonucu gözlenen yükseliş, lityum tedavisini takiben eritrosit zarı Na<sup>+</sup> - K<sup>+</sup>/Mg<sup>++</sup> ATPaz enziminin spesifik aktivitesinin yükselmesi arasında bir benzerliğin var olduğu izlenimi vermektedir.

Maprotilin tedavisi uygulanan depresyonlu hastalara ait eritrosit zarlarında Ca<sup>++</sup>/Mg<sup>++</sup> ATPaz enzimi spesifik aktivitesinde 10'uncu günde 11.4, 30'uncu gününde % 24.58 ve 60'ıncı gününde % 28.9 azalış 10'uncu günlerinde gözlenen azalış istatistiki açıdan önemli olarak bulunmuştur (p < 0.01).

Imipramin gibi bazı trisiklik antidepressifler Ca<sup>++</sup>/Mg<sup>++</sup> ATPaz enzim aktivitesini inhibe ettiği çeşitli araştırmacılar tarafından rapor edilmiştir (19, 20). Çalışmamızda maprotiline bağlı olarak gözlediğimiz Ca<sup>++</sup>/Mg<sup>++</sup>ATPaz enziminin inhibisyonu Imipramin ile benzer farmakolojik özellikleri olan maprotilinin etkisine bağlı olabileceği izlenimi elde edilmiştir.

Sonuç olarak diyebiliriz ki: Depresyonlarda maprotilin uygulaması Na<sup>+</sup> - K<sup>+</sup>/Mg<sup>++</sup> ATPaz ve Ca<sup>++</sup>.Mg<sup>++</sup> ATPaz enzim düzeylerinde önemli değişimlere neden olmaktadır. Depresyonların etyolojisini aydınlatmak için katekolamin düzeyleri ile, birlikte enzim aktivite-lerinde değişiklikleri incelemenin konuya bu açıdan da önemli bir katkısı olabileceği kanısına varılmıştır.

## KAYNAKLAR

1. Delini SA: The Pharmacology of Ludiomil in Depressive Illness, Diagnosis, Assessment, Treatment. Williams and Wilking, Co., 1972.
2. Liyod AI: Practical considerations in the use of maprotiline in general practice. J. Inter. Med. Research, Suppl. 4:122, 1977.
3. Schildraut JJ: The catecholamine hypothesis of affective disorders. A review of supporting evidence. Am. J. Psychiat. 132:509-522, 1965.
4. Zis AP and FK. Godwin: Novel antidepressants and the biogenic amine hypothesis of depression, the case for Iprindole and mianserin. Archs. Gen. Psychiat. 36:1097-1107, 1979.
5. Coopen A: The role of lithium carbonate in the treatment and prophylaxis of the effective disorders. Biochem Soc. Trans. 1:74-78, 1973.
6. Skou JC: Enzymatic basis for active transport of Na<sup>+</sup> and K<sup>+</sup> across cell membrane. Phys. Rev. 45:327-356, 1965.
7. Schwartz A, GE Lindenmayer, and JC Allen: The Na<sup>+</sup> - K<sup>+</sup> ATPase membrane transport system, importance in cellular function. In current topics in membranes and transport. Ed. by Bronner F and Kleinzelter AJ. Academic Press, New York, 3-8, 1972.
8. Naylor GJ, DAT Dick, EG Dick, et al.: Erythrocyte membrane cation carrier in depressive illness. Psychol. Med. 3:502-508, 1978.
9. Swanson PB and VVL Stank Ion Transport. In Basic neurochemistry. Alber GJ, R Siegel, Kitzzman, BW Agranoff. Little Brown Company, Boston 21, 1972.
10. Fuxe K: Evidence for the monoamine neurones in the central nervous system. IV. distribution of monoamine nerve terminals in the central nervous system. Acta. Physiol. Scand. Supp. 247, 64:39, 1965.
11. Dick DAT, EG Dick, DC Tosleson; Inhibition of ATPase in sheep red cell membrane by oxidised Glutathione. J. Genet. Physiol. 54:123-133, 1964.
12. Reading HW and T İsbir: The role of cation activated ATPase in transmitter release in the rat iris. Quarterly Journal of Experimental Physiology. 65:105-115, 1980.
13. Lowry OH, NJ Rosebrough, AL Fan, et al.: Protein measurement with the folin phenol reagents. J. Biol. Chem. 193:265-275, 1951.
14. Harris JW, RE tvellermeyer: The red cell production, metabolism, destruction, normal and abnormal, liarward Univ. Press, Cambridge Mass, 1970.
15. Coopen A and DM Shaw: The distribution of electrolytes and water in patients after taking lithium carbonate. Lancet 2:805-806, 1967.
16. Hokin NM, DA Spiegel, and W Lewis: Deficiency of erythrocyte sodium pump activity in bipolar manic depressive psychosis. Life Science 15:1739-1748, 1974.

17. Whittam R, and ME Ager: Vectorial aspects of adenosine triphosphatase activity in erythrocyte membrane. *Biochem. J.* 93:337-348, 1964.
18. Glen AM, and HW Reading: Regulatory action of lithium in manic depressive illness. *Lancet* 1:1239-1241, 1973.
19. Balzer IIM, WF Makinose, and W Hasselbach: The inhibition of the sarcoplasmic calcium pump by prenylamine, reserpine, chlorpromazine and imipramine. *Arch. Pharmacology, Exp. Pathol.* 260:444-455, 1968.
20. Stekboven SF, and SF Bonting: Transport adenosine triphosphatases, properties and function. *61(1):1-77*, 1981.