

Adınızı soyadınızı giriniz

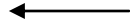


Tez kabul edildikten sonra yapılan **sabit ciltte** **sırt yazısı** bu şablona göre yazılacak. Yazılar tek satır olacak

Cilt sırtı yazıların yönü yukarıdan aşağıya (sol yandaki gibi) olacak .



Tez, Yüksek Lisans'sa, YÜKSEK LİSANS TEZİ;
Doktora ise DOKTORA TEZİ ifadesi kalacak



Tez Sınavının yapılacağı yılı yazınız



EVİM ZEREN BİRER

İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ SAĞ. BİL. ENST.

YÜKSEK LİSANS

İSTANBUL-2020

**T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

**FARELERDE MORFİNE TOLERANS VE BAĞIMLILIK
GELİŞMESİNDE OKSOTREMORİNİN VE
AMİTRİPTİLİNİN ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

EVİRİM ZEREN BİRER

**DANIŞMAN
PROF. DR. NURHAN ENGİNAR**

**TIBBİ FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI
TIBBİ FARMAKOLOJİ VE KLİNİK FARMAKOLOJİ
PROGRAMI**

İSTANBUL-2020

YÜKSEK LİSANS TEZ ONAYI

İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü İstanbul Tıp Fakültesi, Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı, Tıbbi Farmakoloji ve Klinik Farmakoloji Programında Yüksek Lisans öğrencisi Evrim ZEREN BİRER tarafından Prof. Dr. Nurhan ENGİNAR'ın danışmanlığında hazırlanan "Farelerde Morfine Tolerans ve Bağımlılık Gelişmesinde Oksotremorinin ve Amitriptilinin Etkilerinin Araştırılması" başlıklı tez aşağıdaki jüri üyeleri tarafından 06/01/2020 tarihinde yapılan Tez Savunma Sınavında başarılı bulunmuş ve Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı

Prof. Dr. Ali Yagız ÜRESİN
İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi
Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı

Jüri-Danışman

Prof. Dr. Nurhan ENGİNAR
İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi
Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı

Jüri

Prof. Dr. Ayşe Pınar YAMANTÜRK ÇELİK
İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi
Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı

Jüri

Prof. Dr. Rezzan GÜLHAN
Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi
Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı

Jüri

Prof. Dr. Hülya GÜVEN
İstanbul Yeni Yüzyıl Üniversitesi
Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.

Evrin ZEREN BİRER



İTHAF

Bu tez çalışmamı sevgili anneme ve babama ithaf ediyorum.

TEŞEKKÜR

Tez çalışmamın her aşamasında birikimi, sonsuz sabrı ve anlayışı ile varlığını ve desteğini her zaman hissettiğim danışman hocam Prof.Dr. Nurhan Enginar'a, tanımaktan memnuniyet duyduğum, deneyler ve istatistiksel değerlendirmeler sırasındaki yardımları için hocam Prof.Dr. Asiye Nurten'e (İstanbul Yeni Yüzyıl Üniversitesi Tıp Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı), ilgi ve desteklerinden ötürü hocalarım Prof.Dr. İclal Hatipoğlu, Anabilim Dalı Başkanı Prof.Dr. Ali Yağız Üresin ve Prof.Dr. Pınar Yamantürk Çelik'e, deneyler sırasında yardımlarını esirgemeyen İ.Ü. Aziz Sancar DETAE, Laboratuvar Hayvanları Anabilim Dalı çalışanlarına, yaşam yolculuğunda bana yol arkadaşı ve hayal ortağı olan sevgili eşime çok teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI	İİ
BEYAN.....	İİİ
İTHAF.....	İV
TEŞEKKÜR.....	V
İÇİNDEKİLER	VI
TABLolar LİSTESİ.....	Vİİİ
ŞEKİLLER LİSTESİ	İX
ÖZET	X
ABSTRACT.....	Xİ
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Bağımlılık ve Tolerans.....	3
2.1.1. Morfin Bağımlılığı ve Toleransı	5
2.1.1.1. Morfin	5
2.1.1.2. Morfine Tolerans Gelişmesi.....	6
2.1.1.3. Morfine Bağımlılık Gelişmesi.....	8
2.2. Ağrı	10
2.2.1. Ağrının Nöroanatomi ve Nörofizyolojisi	11
2.3. Hayvanlarda Ağrı Davranışını Değerlendirme Yöntemleri	14
2.4. Uyarıcı İle Oluşan Ağrı Benzeri Davranışlar	15
2.5. Oksotremorin	17
2.6. Amitriptilin	17
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	19
3.1. Deney Hayvanları	19
3.2. Droglar ve Uygulamalar	19
3.3. Kızgın Levha Testi.....	19
3.4. Kuyruk Daldırma Testi	20
3.5. Deneylerin Yürütülmesi.....	20
3.5.1. Amitriptilinin ve oksotremorinin farelerde ağrı eşiğine etkilerinin değerlendirilmesi.....	20

3.5.2. Amitriptilinin ve oksotremorinin farelerde morfine tolerans gelişmesine etkilerinin değerlendirilmesi	21
3.5.2.1. Morfinin antinosiseptif etkisinin zamana göre seyrinin değerlendirilmesi.....	21
3.5.2.2. Ek doz morfine yanıtın değerlendirilmesi.....	21
3.5.3. Amitriptilinin ve oksotremorinin farelerde morfine bağımlılık gelişmesine etkilerinin değerlendirilmesi	21
3.6. İstatistiksel Değerlendirme	21
4. BULGULAR.....	22
4.1. Amitriptilinin ve oksotremorinin farelerde ağrı eşiğine etkileri	22
4.2. Amitriptilinin ve oksotremorinin farelerde morfine tolerans gelişmesine etkileri	23
4.2.1. Morfinin antinosiseptif etkisinin zamana göre seyri	23
4.2.2. Ek doz morfine yanıt.....	25
4.2.3. Amitriptilinin ve oksotremorinin farelerde morfine bağımlılık gelişmesine etkileri	26
Tablo 4- 1: Farelerde morfine bağımlılık gelişmesine amitriptilinin ve oksotremorinin etkileri.....	28
5. TARTIŞMA	29
5.1. Çalışmanın Kısıtlılıkları.....	36
5.2. Sonuç.....	36
KAYNAKLAR	37
ETİK KURUL KARARI	61
İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI.....	62
ÖZGEÇMİŞ	63

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 4-1: Farelerde morfine bağımlılık gelişmesine amitriptilinin ve oksotremorinin etkileri.....	28
--	----



ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2- 1: Lokus seruleus ve inisi noradrenerjik inhibitör yolak-Hayashida ve Obata (2019)'dan	13
Şekil 4- 1: Amitriptilinin ve oksotremorinin farelerde ağrı eşiğine etkileri.....	23
Şekil 4- 2: Morfinin farelerde ağrı eşiğine etkisinin zamana göre seyrine amitriptilinin ve oksotremorinin etkileri.....	25
Şekil 4- 3: Morfinin farelerde ağrı eşiğine etkisine tolerans gelişmesine amitriptilinin ve oksotremorinin etkilerinde ek doz morfine yanıt.	26



ÖZET

Zeren Birer, E. (2020). Farelerde morfine tolerans ve bağımlılık gelişmesinde oksotremorinin ve amitriptilinin etkilerinin araştırılması. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı. Yüksek Lisans Tezi. İstanbul.

Kolinerjik ve noradrenerjik drogların antinosiseptif etkileri olduğu ve morfine tolerans ve bağımlılık gelişmesini azalttıkları gösterilmiştir. Noradrenalin ve serotonin geri alım inhibitörü amitriptilinin de benzer etkileri bulunmaktadır. Amitriptilin belirgin antikolinerjik etki gösterdiğinden, muskarinik agonist ile birlikte kullanımında bu etkinliklerin değişebileceği öne sürülebilir. Bu çalışmada; farelere 3 gün günde 2 kez deri altı yolu ile serum fizyolojik, 10 mg/kg amitriptilin, 0,1 mg/kg oksotremorin veya amitriptilin ile birlikte oksotremorin uygulandı. Birinci gün ağrı eşiği ölçüldü. Ardından hayvanlara plasebo veya morfin peleti konuldu ve 4,48 ve 72 saat sonra antinosiseptif etkinin zamana göre seyri, tolerans gelişmesi ve nalokson ile yoksunluk oluşması değerlendirildi. Amitriptilin kızgın levha ve kuyruk daldırma testlerinde, oksotremorin kuyruk daldırma testinde analjezik etki gösterdi. Oksotremorin kızgın levha testinde amitriptilinin etkisini ortadan kaldırdı. Kontrol-morfin grubunda analjezik etki kızgın levha testinde 48 saat sonra kayboldu, kuyruk daldırma testinde varlığını sürdürdü. Amitriptilin-morfin grubunda analjezik etki kızgın levha testinde 48 saat, kuyruk daldırma testinde 72 saat sürdü. Oksotremorin-morfin grubunda kuyruk daldırma testinde 48 saat sonra morfinin etkisi ortadan kalktı. Amitriptilin-okso-tremorin-morfin grubunda iki testte de değişiklik olmadı. Ek doz morfine tolerans yanıtını amitriptilin önledi, oksotremorin belirgin hale getirdi. Naloksona bağlı yoksunlukta, kontrol-morfin grubundan farklı olarak amitriptilin-morfin grubunda ağırlık kaybı saptandı, amitriptilin-okso-tremorin-morfin grubunda diğer belirtiler daha az oldu. Amitriptilin ve oksotremorin olasılıkla spinal ve/veya supraspinal düzeyde analjezik etki göstermekte, morfine tolerans gelişmesini amitriptilin azaltırken, oksotremorin güçlendirmekte, bağımlılık gelişmesini ise amitriptilin güçlendirirken, amitriptilin ile birlikte oksotremorin verilmesi hafifletmektedir. Analjezi ve morfine tolerans ve bağımlılık oluşmasına, kolinerjik ve noradrenerjik mekanizmaların katkılarına ve aralarındaki etkileşime ilişkin bulgular ileri çalışmalar ile desteklenmelidir.

Anahtar Kelimeler: morfin, tolerans, bağımlılık, oksotremorin, amitriptilin, analjezi

ABSTRACT

Zeren Birer, E. (2020). Investigation of the effects of oxotremorine and amitriptyline on the development of morphine tolerance and dependence in mice. Istanbul University, Institute of Health Science, Department of Medical Pharmacology. Thesis of Master. Istanbul.

It has been reported that cholinergic and noradrenergic drugs have antinociceptive effects and reduce the development of tolerance to and dependence on morphine. Noradrenaline and serotonin reuptake inhibitor amitriptyline possesses similar effects also. Since amitriptyline has marked anticholinergic activity, it can be suggested that these effects may change when amitriptyline is used with a muscarinic agonist. In the present study, mice were administered subcutaneously twice daily for 3 days with saline, 10 mg/kg amitriptyline, 0.1 mg/kg oxotremorine or a combination of amitriptyline and oxotremorine. On the first day, pain threshold was measured. Then the animals were implanted subcutaneously with placebo or morphine pellets and the time course of the antinociceptive effect after 4, 48 and 72 hours, the development of tolerance and withdrawal with naloxone were assessed. Amitriptyline demonstrated analgesic effect in the hot-plate and tail immersion tests and oxotremorine exerted in the tail immersion test. In the hot-plate test, oxotremorine abolished the analgesic effect of amitriptyline. The analgesic effect in the control-morphine group, while continued in the tail immersion test, disappeared in the hot plate test 48 hours later. The analgesic effect in the amitriptyline-morphine group lasted 48 hours in the hot plate test and 72 hours in the tail immersion test. The effect of morphine disappeared after 48 hours in the tail immersion test in the oxotremorine-morphine group. No change was observed in the amitriptyline-oxotremorine-morphine group in both tests. Response to morphine challenge was prevented by amitriptyline and was enhanced by oxotremorine. In naloxone induced withdrawal syndrome, weight loss was present in the amitriptyline-morphine group, but not in the control-morphine group. Other signs were less in the amitriptyline-oxotremorine-morphine group. Amitriptyline and oxotremorine produce analgesic effects possibly at the spinal and/or supraspinal level, amitriptyline reduces morphine tolerance while oxotremorine enhances it and amitriptyline enhances dependence while co-administration of amitriptyline and oxotremorine alleviates it. Evidence for the contribution of cholinergic and noradrenergic mechanisms to the development of analgesia, morphine tolerance and dependence, and their interaction should be supported by further studies.

Key Words: morphine, tolerance, dependence, oxotremorine, amitriptyline, analgesia

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Ağrı tedavisinde morfin ve benzeri opiyatların uzun süreli kullanılmalarında analjezik etkiye tolerans ve bağımlılık gelişmesi sorun oluşturmakta altta yatan mekanizmalarının anlaşılmasına ve yoksunluk belirtilerinin hafifletilmesi veya önlenmesine ilişkin pek çok araştırma yapılmaktadır (Kosten ve George 2002; Bailey ve Connor 2005). Hayvan çalışmaları ve klinik çalışmalar, morfine tolerans ve bağımlılık gelişmesinin opioidderjik ve diğer sistemlerdeki uyumsal değişiklikleri içeren karmaşık bir fizyolojik yanıt olduğunu göstermiştir. Opioid reseptörlerinin sürekli uyarılması, reseptör kenetlenmesinde, reseptör sayısında ve reseptöre bağlı efektör proteinlerde değişikliklere yol açmaktadır (Martini ve Whistler 2007). Ayrıca kolinerjik (Neugebauer ve ark. 2013) ve adrenerjik (Maldonado 1997) sistemlerde sinyal değişiklikleri, glutamaterjik N-metil-D-aspartat (NMDA) reseptörlerinin aşırı uyarılması (González ve ark. 1997) ve glial hücrelerden proinflamatuvar sitokinlerin salıverilmesi (Watkins ve ark. 2005) gibi çeşitli değişikliklere neden olmaktadır.

Ağrının modülasyonunda endojen opioidderjik sistemin mü, delta ve kappa reseptörleri aracılığı ile oynadığı önemli role çeşitli nörotransmitter sistemleri de katkıda bulunur (Fürst 1999; Lau ve Vaughan 2014; Felice ve Ossipov 2016). Kolinerjik sistem, muskarinik ve nikotinik reseptörleri aracılığı ile omurilik düzeyinde ve üst merkezlerde ağrı uyaranının santral sinir sistemine girişinde ve algılanmasında modülatör etkinlik gösterir (Naser ve Kuner 2018). Bu etkinlikte kolinerjik ve opioidderjik sistemlerin karmaşık bir etkileşim gösterdiği öne sürülmüştür (Dulu ve ark. 2014). Asetilkolin yıkımının azaltılması veya muskarinik reseptörlerin uyarılması ile asetilkolin salıverilmesinin artırılması, ağrı eşiğinin yükselmesine yol açar (Abelson ve Höglund 2002a; Galeotti ve ark. 2005). Özellikle M₂ muskarinik reseptörler (Duttaroy ve ark. 2002) başta olmak üzere M₁ ve M₂ muskarinik reseptörler (Mojtahedin ve ark. 2009) analjezik etkide rol oynar. Adrenerjik sistemin ağrının modülasyonundaki rolüne ilişkin olarak da pek çok veri bulunmaktadır (Ossipov ve Dussor 2010). Omurilikte arka boynuzda bulunan alfa-2 adrenerjik reseptörlerin, lokus seruleustan omuriliğe gelen inici yolların ucundan açığa çıkan noradrenalin ile uyarılmaları akut ağrıyı önler (Sawynok ve Reid 1986). Serotonerjik sistemin oluşturduğu inici yolak ise omurilikte

bulunan 5-HT₁ serotonin reseptörleri aracılığı ile antinosiseptif etkiye katkıda bulunur (Sawynok ve Reid 1995).

Morfine tolerans (Wong ve Bentley 1980; Gawel ve ark. 2017) ve bağımlılık (Buccafusco ve ark. 2000) gelişmesini muskarinik reseptör agonistlerinin ve asetilkolinesteraz inhibitörlerinin azalttığı gösterilmiştir. Ancak, morfin toleransı ve bağımlılığında kolinerjik sistemin doğrudan başat etkinliğinin olmadığını öne süren (Bhargava ve Way 1976) veya muskarinik reseptör antagonistlerinin gelişimi hafifletici etki gösterdiklerini bildiren (Yang ve ark. 1997) araştırmacılar da bulunmaktadır. Benzer çelişki adrenerjik sistemde de gösterilmiştir. Hem alfa-2 adrenerjik reseptör agonistleri (Ramaswamy ve ark. 1983; Gursoy ve ark. 2011) hem de antagonistleri (Kihara ve Kanetto 1986) morfine tolerans ve bağımlılık gelişmesini azaltabilmektedir. Öte yandan bir trisiklik antidepresan olan amitriptilinin, noradrenerjik ve serotonerjik sistemler yanı sıra opioidlerjik sistem aracılığı ile antinosiseptif etki oluşturduğu (Valverde ve ark. 1994; Büyükşekerci ve Gültekin 2005), morfine tolerans (Tai ve ark. 2006; Habibi-Asl ve ark. 2014) ve bağımlılık (Habibi-Asl ve ark. 2014) gelişmesini azalttığı bildirilmiştir.

Yukarıdaki bilgilerin ışığında; belirgin antikolinerjik etkisi bulunan amitriptilinin, kolinerjik bir drog ile birlikte kullanımında antinosiseptif yanıtın ve morfine tolerans ve bağımlılık gelişmesini önleyici etkinin değişebileceği öne sürülebilir. Bu çalışmada; morfin peleti uygulaması ile birlikte amitriptilin ve/veya muskarinik agonist oksotremorin verilen farelerde, kızgın levha ve kuyruk daldırma testleri kullanılarak antinosiseptif etkiye tolerans ve bağımlılık gelişmesine kolinerjik sistemin katkısı değerlendirildi.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Bağımlılık ve Tolerans

Bağımlılık, Dünya Sağlık Örgütü tarafından drog veya alkol, tütün gibi psikoaktif bir maddenin uzun süre kullanılması ile ortaya çıkan, fiziksel ve psişik (psikolojik) öğeleri olan fizyolojik, davranışsal ve bilişsel bir örüntü olarak tanımlanır. Keyif artırıcı etkiyi duyumsamak veya yokluğun vereceği huzursuzluktan sakınmak için maddenin devamlı veya dönemler halinde alınması ile ortaya çıkan bir durum (Eddy ve ark. 1965) olup madde ile santral sinir sistemi arasındaki etkileşmeden doğar. Bağımlılık gelişen bireyde maddeyi almaya karşı güçlü bir istek veya zorlayıcı (kompulsif) bir duygu vardır. Fiziksel veya ruhsal zararlara karşı kullanımı sürdürme ısrarında azalma olmaz. Madde kullanımının kontrolü veya azaltılmasında girişimler başarısız olur. Maddenin kullanımının azaltılması veya kesilmesine bağlı bir fizyolojik yoksunluk durumu ortaya çıkar. Maddenin etkilerine karşı tolerans gelişir. Bunun sonucunda istenen etkide anlamlı azalma veya aşırı miktarlarda kullanım sonucu zehirlenme ortaya çıkar. Belirtilerden en az üç tanesinin birlikte olarak en az bir ay sürmesi birlikte gibi ölçütler ile bağımlılık tanısı konulur (Kayaalp 2012; https://www.who.int/substance_abuse/terminology/definition1/en/04.11.2019).

Psikoaktif maddeler duyularda, davranışta, bilinçte ve psişik durumda değişiklik oluşturur. Bu etkilere bağlı kötüye kullanımlarında kişisel özellikler ve çevresel etkenler yanı sıra pekiştirici olma özelliği de önemli rol oynar. Bu özellik ruhsal durumda ve davranışta oluşan farmakolojik etkinin, maddeyi kullanmayı sürdürme davranışını teşvik etmesidir. Keyif artışı/öfori oluşması pozitif pekiştirici, kesilmeye veya sağlanamama durumlarına bağlı keyifte azalma negatif pekiştirici özelliği oluşturur. Bu özellikler beyinde uyumsal değişiklikleri içerir (Nestler 2016; Ables ve ark. 2017). Pozitif pekiştirici özellik medyal ön-beyin demeti, ventral tegmental alan ve septum gibi beyin mezolimbik ve mezokortikal dopaminerjik sistem ile ilgili ödüllendirici bölgelerinin etkilenmesine bağlıdır (Fields ve Margolis 2015; Cooper ve ark. 2017).

Bağımlılık, psişik ve fiziksel bağımlılık olarak ikiye ayrılır (Eddy ve ark. 1965). Genellikle uyarıcı maddelere karşı gelişen psişik bağımlılıkta madde pozitif pekiştirici özelliktedir; psişik özlem maddeyi almayı değişen derecede teşvik eder. Bağımlılık oluşturan maddeler arasında psişik bağımlılık oluşturma gücü değişiklik gösterir. Örneğin morfin ve eroin gibi opioidlerde psişik bağımlılık güçlüdür. Fiziksel bağımlılık

psikişik bağımlılıktan farklıdır. Özel bazı durumlar dışında genellikle psikişik bağımlılık ile birlikte gelişir. Maddenin vücutta kısa veya uzunca bir süre bulunması sonucunda ortaya çıkan, maddenin etkilediği hedef nöronlarda veya reseptör sonrası olaylarda veya bu nöronların işlevlerini kontrol eden nöronların oluşturduğu diğer sistemlerdeki bir uyum durumudur (Listos ve ark. 2019). Maddeye karşı-yanıt niteliğinde olan bu durum, madde kesildiğinde veya özgün antagonist verildiğinde yoksunluk sendromu adı verilen yoğun fiziksel bozukluklar ile kendini gösterir. Negatif pekiştirici özelliği oluşturan ve kesilme (withdrawal) sendromu da denilen bu durumdan sakınma isteği kullanımı teşvik eder. Maddenin kendisi kadar kullanım süresi ve kullanım yolu da bağımlılığın şiddetini belirler. Etkinin çabuk başlamasını sağlayan damar içi (ven içi) enjeksiyon ile alınma inhalasyon yolu ile alınmaya göre daha güçlü bağımlılığa yol açar (Gossop ve ark. 1992). Yoksunluk sendromunun şiddeti fiziksel bağımlılığın derecesini yansıtır. Kullanma süresi ne kadar uzun ve günlük doz ne kadar fazla ise o kadar şiddetli yoksunluk sendromu ortaya çıkar (Broseta ve ark. 2002).Yarılama ömrü uzun ise madde kesildiğinde yoksunluk belirtileri hafif olur. Deney hayvanlarında maddenin reseptör düzeyinde antagonisti verilerek veya uygulama birden sonlandırılarak yoksunluk oluşturulur. Fiziksel bağımlılık oluşan maddelerden bazılarında karşı tolerans da ortaya çıkabildiğinden (Eddy ve ark. 1965), fiziksel bağımlılık ve toleransın beyinde aynı mekanizmalar ile oluştuğu öne sürülmüştür (Goldstein 1979).

Tolerans uzun süre devamlı kullanılan bazı drogların başlangıçtaki dozlarının oluşturduğu etki şiddetinin giderek azalması ve etki süresinin kısalması durumudur. Aynı şiddette etkiyi sağlamak için doz artırımı gerekir. Tolerans oluşumuna göre ikiye ayrılır. Biyokimyasal tolerans farmakokinetik toleranstır. Sürekli verilme sonucu bazı droglar metabolizmalarında rol oynayan enzimlerin yapımını artırarak (enzim indüksiyonu) yıkımlarını hızlandırır. Bu durum plazma düzeyinin ve etkinin giderek azalmasına yol açar. Farmakodinamik tolerans ise hücresel toleranstır. Hücrelerde ve reseptörlerde devamlı droga maruz kalma sonucu duyarlılık ve yanıt azalır. Bu duruma plazma düzeyinde azalma eşlik etmez. Reseptörlerdeki down-regülasyon (sayısal azalmaya bağlı düzenleme) farmakodinamik toleransa örnek oluşturur. Biyokimyasal ve farmakodinamik tolerans birlikte veya tek başına gelişebilir. Genellikle tolerans drogun bütün etkilerinin tamamına değil bir bölümüne karşı oluşur. Karşıt veriler olsa da kesintisiz kullanım tolerans gelişimini teşvik eder (Duttaroy ve Yoburn 1995). Drog

vücuttan tamamen temizlendiğinde tolerans hali kaybolur (Kayaalp 2012; Katzung 2018).

2.1.1. Morfin Bağımlılığı ve Toleransı

2.1.1.1. Morfin

Morfin, haşhaş bitkisinin (*Papaver somniferum*) olgunlaşmamış kapsülünden elde edilen özsuynun kurutulması ile elde edilen afyonun (opiumun) içinde en yüksek oranda bulunan alkaloiddir. Hidroklorür veya sülfat tuzu şeklinde kullanılır. Kas içi, deri altı, intratekal veya epidural yollardan verilir. Ağız yolundan alındığında mide-barsak kanalından tam olarak emilirse de karaciğerden ilk geçişte önemli bir bölümü yıkıma uğradığı için biyoyararlanımı düşüktür. Diğer yollara göre ağız yolundan daha yüksek dozda verilir. Plazma proteinlerine yaklaşık %25-35 oranında bağlanır. Yarılanma ömrü ortalama 2,95 saat kadardır. Karaciğerde glükuronitleşme reaksiyonu ile büyük oranda morfin-3-glükuronata dönüşür. Bu dönüşüm sırasında morfin-6-glükuronatda oluşur. Konjüгатlar daha çok böbrek yolu ile atılır. Safra ile atılan konjüгатlardan ise ince barsakta serbestleşen morfinin bir bölümü yeniden emilerek enterohepatik dolanıma girer (Kayaalp 2012; Katzung 2018).

Morfin bir opioid agonist olup endojen opioid peptid endorfin, enkefalin ve dinorfinin beyinde yaygın olarak bulunan mü (μ), delta (δ) ve kappa (κ) reseptörlerini uyararak etkisini gösterir. Hücre membranında G proteinlerine kenetli olan bu reseptörler son yıllarda sırası ile OP_3 , OP_2 ve OP_1 reseptörleri olarak adlandırılmaktadır (Brain ve ark. 2015; Cox ve ark. 2015). Uyarıldıklarında adenilil siklaz inhibisyonu ile hücre içinde siklik adenosin monofosfat (sAMP) düzeyinde düşüş, voltaja bağlı kalsiyum kanallarından Ca^{2+} girişinde azalma ve potasyum kanallarının açılması ile hiperpolarizasyon ortaya çıkar (Connor ve Christie 1999). Opioid reseptörleri analjezi, solunum merkezinin baskılanması, kalp-damar sisteminin kontrolü, mide-barsak geçiş hızının yavaşlatılması, immun işlevlerin düzenlenmesi, beslenme, öğrenme ve bellek gibi çeşitli etkilere aracılık ederler. Mü reseptörlerinin, mü-1 (μ_1) ve mü-2 (μ_2) olmak üzere morfine afinitesi (ilgisi) yüksek olan iki alt tipi vardır. Delta ve kappa reseptörlerinin ise morfine afiniteleri değişkenlik gösterir (Jordan ve ark. 1999). Özellikle mü opioid reseptörleri supraspinal ve spinal analjeziye, solunumun baskılanmasına ve öfori yapıcı etkiye aracılık eder. Daha zayıf etkinliğe aracılık eden

kappa opioid reseptörleri spinal analjezide, delta opioid reseptörleri spinal analjezi ve solunum baskılanmasında rol oynar (McDonald ve Lambert, 2014).

Morfinin santral sinir sisteminde en önemli etkisi analjezi oluşturmaktır. Bu etkiyi omurilik düzeyinde ve üst merkezlerde ağrı yolları üzerinde gösterir. Omurilikte arka boynuzda birinci ağrı nöronu ile ikinci ağrı nöronu arasındaki sinapta özellikle mü opioid reseptörlerini uyararak presinaptik inhibisyon ile ağrı uyarınının girişini engeller (McDonald ve Nelson 1978). Etkiye kappa reseptörlerinin uyarılması da katkıda bulunur (McDonald ve Lambert 2014). Morfin, supraspinal analjeziyi daha çok mü reseptörlerinin aracılık ettiği beyin sapından omuriliğin arka boynuzuna ve trigeminusun duyuşal çekirdeğine inen inhibitör yolları uyararak oluşturur (Lueptow ve ark. 2018). Talamus üzerindeki analjezik etkisinde de mü-1 reseptörlerin rolü vardır (Tamaddonfard ve Erfanparast 2017). Morfinin en önemli istenmeyen etkisi olan solunum merkezinin inhibisyonunda mü-2 reseptörleri rol oynar (Trescot ve ark. 2008). Morfin öksürük kesici, bulantı, kusma ve göz bebeğinde küçülme yapıcı etkilere sahiptir. Periferde mast hücrelerinden histamin açığa çıkartır. Beyin sapında vazomotor merkezi baskılar. Bu ikili etki ile kan basıncını düşürür. Hipotalamusta ısı düzenleme merkezini etkileyerek vücut ısını düşürür, antidiüretik hormon, prolaktin ve somatotrop hormon salgılanmasını uyarır, adrenokortikotropik hormon salgılanmasını baskılar. Mide ve ince barsak tonusunu artırarak kabızlık yapar. İşeme güçlüğüne ve idrar retansiyonuna neden olabilir (Kayaalp 2012; Katzung 2018).

2.1.1.2. Morfine Tolerans Gelişmesi

Morfinin özellikle analjezik, hipotermik ve lokomotor aktivite üzerine olan etkilerine tolerans gelişmesi, çoğunlukla fare (Semenova ve ark. 1995) ve sıçanlarda (Nakagawa ve Satoh 2004) ve son yıllarda genetik değışikliğı uğramış farelerde (Kest ve ark. 2001; Fitting ve ark. 2016) yapılan çok sayıda çalışmada araştırılmıştır. Morfin uygulamaları için periton içi enjeksiyonu (Habibi-Asl ve ark. 2014), deri altına pelet yerleştirilmesi (Bhargava 1978; Peart ve Gross 2004) veya deri altına infüzyon yapılması (Timar ve ark. 2005) yeğlenmiştir. Etkinin seyrindeki zamana bağı azalma tolerans göstergesi olarak kabul edilmektedir (Collett 1998; Yuill ve ark. 2016). Morfin challenge (sataşma, meydan okuma) testi ise tolerans değerdendirmede sık kullanılır (Morgan ve Christie 2011). Toleransın değerdendirileceğı gün hayvanlara ek doz morfin

verilir. Kontrol grubuna göre morfin grubunda yanıtın daha az olması tolerans gelişmesinin kanıtı olarak kabul edilir (Habibi-Asl ve ark.2014).

Morfine gelişen tolerans hücresel değişiklikleri içeren farmakodinamik toleranstır. Altta yatan mekanizmalar karmaşık olup opioid reseptörlerinde (Allouche ve ark. 2014) veya anti-opioid sistemlerde (Ueda ve Ueda 2009) ortaya çıkan değişiklikleri içerir. Doğrudan opioid reseptör düzenlenmesi ile ilgili mekanizmalar, reseptörün hücre içine alınması (endositoz) ve ardından yıkılması veya reseptör sentezinin azalmasına bağlı reseptör sayısında azalma, duyarsızlaşma ve hücre içine alınmadır (von Zastrow ve ark. 2003). Mevcut reseptör miktarının azalması toleransa katkıda bulunur (Afify ve ark. 1998; Bernstein ve Welch 1998). Bazı koşullarda reseptör sayısı değişmeden de yanıt azalması gelişebildiğinden (Polastron ve ark. 1994), tolerans için zorunlu bir mekanizma olmadığı öne sürülmüştür (Allouche ve ark. 2014). Duyarsızlaşma, akut opioid kullanımında ortaya çıkan reseptörün G proteinine kenetlenememesine bağlı bir tolerans mekanizmasıdır (Harada ve ark. 1989). Homolog ve heterolog olmak üzere iki tip duyarsızlaşma tanımlanmıştır. Homolog duyarsızlaşma agonistin bağlandığı reseptörlerde görülürken, heterolog duyarsızlaşmada aynı sinyal yolağını paylaşan agonist ile uyarılan ve uyarılmayan reseptörlerde etkisizleşme ortaya çıkar (Allouche ve ark. 2014). Reseptör seyri (trafiği) fosforilasyon, hücre içine alınma, sekestrasyon/membrana tekrar göç ve down-regülasyon süreçlerini içerir (Johnson ve ark. 2005). Reseptörün agonisti ile uyarılması, reseptöre kenetli kinazlar ile fosforillenmesine ve ardından arrestin bağlanmasına neden olur. Bağlanma, G proteininin reseptörden ayrılmasına, reseptör-G proteini kenetlenememesine, yol açar (Lohse ve ark.1996). Klaritrin bağımlı bir yolak aracılığı ile hücre içine alınan reseptörler ya tekrar membrana yollanır ya da yıkıma uğrar (Shenoy ve Lefkowitz 2003). İkinci ulaklara bağımlı protein kinaz C, protein kinaz A ve kalsiyum/kalmodulin bağımlı kinazlar ile duyarsızlaşma modüle olabilir (Ueda ve ark. 2003). Kronik opioid kullanımı sonrasında da mü opioid reseptörlerde G proteinine kenetlenememe sonucu duyarsızlaşma ortaya çıkmaktadır (Polastron ve ark. 1994; Bohn ve ark. 2000). Duyarsızlaşma ve toleransın ilişkisiz mekanizmalar olduğu (Grecksch ve ark. 2011), opioid reseptörlerinin hücre içine alınmasının tamamen anlaşılamayan mekanizmalar ile toleransı azalttığı (Finn ve Whistler 2001; Pradhan ve ark. 2010) da öne sürülmüştür. Son yıllarda beyinde nöron membranında G proteini ile kenetli iki opioid reseptörün homomer (mü ve mü reseptörü) veya heteromer (mü ve delta reseptörü) olarak eksprese

edildikleri, heteromerlerin farmakolojik ve işlevsel özelliklerinin homomerlerden farklı olduğu bildirilmiştir (Jordan ve Devi 1999). Farelerde kronik morfin uygulamasında ağrı ile ilgili beyin alanlarında delta-mü heteromerlerinin sayısının arttığı gösterilmiş (Gupta ve ark. 2010), heteromerlerinin morfine tolerans gelişmesine katkılarının olabileceği iddia edilmiştir (Costantino ve ark. 2012).

Morfine karşı gelişen toleransta nöral ağlarda plastisite değişikliklerinin rol oynayabileceği görüşleri de literatürde önemli yer tutmaktadır (Trujillo 2000; Ueda ve Ueda 2009). Anti-opioid sistem değişiklikleri olarak özellikle glutamaterjik sistem üzerinde yoğunlaşmıştır (Chartoff ve Connery 2014). Kronik morfin kullanımında, omurilikte glutamat taşıyıcılarının down-regülasyonu (Mao ve ark. 2002) ve beyinde NMDA reseptörleri değişiklikleri gösterilmiş (Koyuncuoğlu ve ark. 1999; Inoue ve ark. 2003; Ko ve ark. 2008), beyin kaynaklı nörotrofik faktörün (BDNF'in) salıverilmesinde artış (Matsushita ve ark. 2013), nöropeptid Y'de azalma (Pages ve ark. 1991) ve nitrik oksid yapımında artış (Abdel-Zaher ve ark. 2013) bildirilmiştir. Morfine tolerans gelişimi ile ilgili olarak opioid reseptörlerinin alfa-adrenerjik reseptörler ile etkileştiği (Robson ve ark. 1983), omurilikte noradrenerjik reseptörlerin uyarılmasının toleransı baskıladığı (Satarian ve ark. 2008) ve tolerans gelişen hayvanların çeşitli beyin bölgelerinde alfa-2 adrenerjik reseptörlerin sayısal ve işlevsel değişiklik gösterdikleri (Smith ve ark. 1989) de literatürde yer almıştır. Öte yandan serotonerjik etkinliğin artmasının tolerans gelişimini azalttığı (Li ve ark. 2001) ve bu etkide 5-HT₂ reseptörlerinin rol oynayabileceği (Zarrindast ve ark. 1995) gösterilmiştir. Ayrıca, hızlı tolerans gelişiminde beyin bölgelerinde kolin asetiltransferaz ve asetilkolinesteraz enzimlerinin etkinliklerinin değiştiği (Wahba ve ark. 1987), kolinerjik etkinliğin artmasının tolerans gelişimini azalttığı (Gawel ve ark. 2017) ve omurilikte muskarinik M₁ reseptörlerinin tolerans gelişimine aracılık ettiği (Yang ve ark. 1997) bildirilmiştir.

2.1.1.3. Morfine Bağımlılık Gelişmesi

Morfine bağımlılık gelişmesi ile ilgili araştırmalarda fare (Semenova ve ark.1995), sıçan (Nakagawa ve Satoh 2004) ve genetik değişikliğe uğramış fareler (Fitting ve ark. 2016) ve injeksiyon (Suzuki 1990;Kelsey ve ark. 2015), pelet (Bhargava 1978; Peart ve Gross 2004) ve infüzyon (Timar ve ark. 2005) gibi uygulama yolları kullanılır. Genellikle bağımlılık tolerans gelişimi de birlikte değerlendirilir (Hosseinzadeh ve ark. 2016). Yoksunluk nalokson, naltrekson gibi bir mü ve kappa

opioid reseptör antagonistleri ile ortaya çıkartılır (Kelsey ve ark. 2015; Hosseinzadeh ve ark. 2016). Antagonist verildikten sonra ağırlık kaybı, ishal, ıslak köpek silkelmesi, sıçrama, tremor, ajitasyon, karın krampları, göz kapağında düşme, burun akıntısı, tükürük ve göz yaşı gibi salgılarda artış, işeme, dokunmaya duyarlılık, tüylerin dikilmesi, dış gıcırdatma gibi motor ve otonom sinir sistemi ile ilgili değişiklikler ortaya çıkar (Koob ve ark. 1992; Pinelli ve Trivulzio 1997; Morgan ve Christie 2011). İlk dört belirti opiat bağımlılığının derecelendirilmesine olanak sağlar (Broseta ve ark. 2002). Opioid bağımlılığı *in vitro* olarak da izole kobay ileumu gibi preparatlarda nalokson yoksunluğu ile taklit edilebilmektedir (Luján ve Rodríguez 1981).

Morfin bağımlılığını açıklamak için çeşitli mekanizmalar öne sürülmüştür. Bu mekanizmaların başında opioiderjik reseptörler ve reseptör sonrası moleküller ile ilgili değişiklikler gelir (Ueda ve Ueda 2009). Kronik morfin uygulamasında siklik AMP düzeyindeki artışa dayanılarak siklik AMP yolağında, bağımlılık yanı sıra tolerans oluşumuna da katkıda bulunan uyumsal bir değişikliğin olduğu öne sürülmüştür (Sharma ve ark. 1975). Membranda potasyum iyonlarına karşı geçirgenliğin etkilenmesi, endojen opioid yapımının baskılanması (Lord ve ark. 1977) ve nosiseptin/orfanin, glutamat, kolesistokinin gibi nörotransmitterleri içeren anti-opioid nöronlarda plastisite oluşması (Nakagawa ve ark. 2004; Gupta ve ark. 2010) fiziksel bağımlılık mekanizmaları arasında yer almaktadır.

Morfin bağımlılığı ve yoksunluğu kolinerjik sinyal yollarında değişiklik oluşturabilmektedir. Kronik morfin uygulanmasında asetilkolinesteraz enziminin etkinliğinin azaldığı (Neugebauer ve ark. 2013), muskarinik agonistlere duyarlılığın arttığı (Christie ve Overstreet 1979), nalokson ile oluşturulan yoksunlukta, bazı davranışsal belirtiler ile ilintili olarak nükleus akkümbeşte hücre dışında asetilkolin düzeyinde artış olduğu (Rada ve ark. 1991) ve bazı beyin alanlarında asetilkolinesteraz aktivitesinin azaldığı (Wooten ve ark. 1982; Frenois ve ark. 2002) gösterilmiştir. Ayrıca, kolinerjik agonistler yoksunluk belirtilerini azaltmakta (Wong ve Bentley 1980) ve morfin uygulanması sırasında kolinerjik etkinlikteki artış bağımlılık gelişimini bir dereceye kadar baskılayabilmektedir (Buccafusco ve ark. 2000).

Morfin yoksunluğunda beyinde noradrenerjik nöronlarda hiperaktivite olduğu pek çok araştırmacı tarafından gösterilmiştir (Aston-Jones ve Kalivas 2008). Yoksunluk belirtilerinden dış gıcırdatma, salya oluşumu, burun akıntısı, göz kapağında düşme ve

kılların dikilmesi artmış noradrenerjik etkinlik ile ilişkilendirilmiştir (Delfs ve ark. 2000). Alfa-2 adrenerjik agonist klonidin insanlarda ve hayvanlarda yoksunluk sendromunu hafifletir (Britton ve ark. 1984), beta-adrenerjik antagonistler yoksunluğun somatik ve sakınılan (aversive) belirtilerini azaltır (Harris ve Aston-Jones 1993). Morfin bağımlılığında ödül merkezinin uyarıldığı ve yoksunluk belirtilerinde mezokortikolimbik sistemde dopamin konsantrasyonunun azalmasının kritik rol oynadığı da bilinmektedir (Acquas ve Di Chiara 1992).

2.2. Ağrı

Uluslararası Ağrı Araştırmaları Derneğine (IASP) göre ağrı doku hasarının eşlik ettiği hoş gitmeyen duysal ve duygulanım (emosyonel) ile ilgili bir deneyimdir. Bireyi ani doku hasarına karşı uyarır ve iyileşme sürecinde yaralanmış bölgenin daha fazla hasarlanmasını engeller. Ancak uzun sürdüğünde fiziksel ve psişik zarar verebilen bir duruma dönüşebilir (Steeds 2016).

Nosiseptörler, deri, kas, iskelet sistemi ve iç organlarda bulunan zararlı uyarı olarak nitelendirilen mekanik, kimyasal veya ısı/sıcak etkenler ile uyarılan özel reseptörlerdir. Nosisepsiyon, zararlı uyarı bilgisinin periferden santral sinir sistemine iletilmesi, üst merkezlerde algılanması ve yanıt oluşturulmasını içeren karmaşık elektrokimyasal olayları içerir. Bu bileşenlerin anatomik, fizyolojik ve psişik öğeleri bulunur (Loeser ve Melzack 1999; Fillingim ve ark. 2016).

Ağrı süresine göre akut veya kronik, kaynaklandığı bölgeye göre viseral veya somatik veya etkilenen sisteme göre (mide-barsak veya ürogenital sistem gibi) sınıflandırılır. Ancak son yıllarda sınıflandırmanın, oluşum mekanizmalarını, belirtileri ve sendromları temel alarak yapılması önerilmiştir. Bu anlayışa göre ağrı nosiseptif, nöropatik veya inflamatuvar ağrı olarak sınıflandırılır (Woolf ve ark. 1998). Nosiseptif ağrı zararlı uyarıya karşı nosiseptörler aracılığı ile oluşur ve koruyucu özelliktedir. Nöropatik ağrı ise nosisepsiyona neden olan zararlı bir uyarı yoktur, nörolojik bir yapı veya işlevin değişmesine bağlı olarak ağrı oluşur. Nöropatik ağrı patolojik ağrı olarak da adlandırılır ve genellikle allodini ile birlikte seyreder Allodini çoğunlukla inflamasyona veya diyabet gibi metabolik hastalıklara veya nörolojik hastalıklara bağlı olarak oluşan santral ağrı duyarlılığıdır ve reseptörlerin tekrarlayan şekilde uyarılmasına bağlıdır. Hiperaleji sıcaklık veya mekanik uyarı ile oluşan ağrıya duyarlılık veya

azalmış eşik olarak tanımlanır (Yam ve ark. 2018). Hipoaljezi de duysal kayıp olduğunda nosiseptif uyarana karşı azalmış duyarlılık ile tanımlanır.

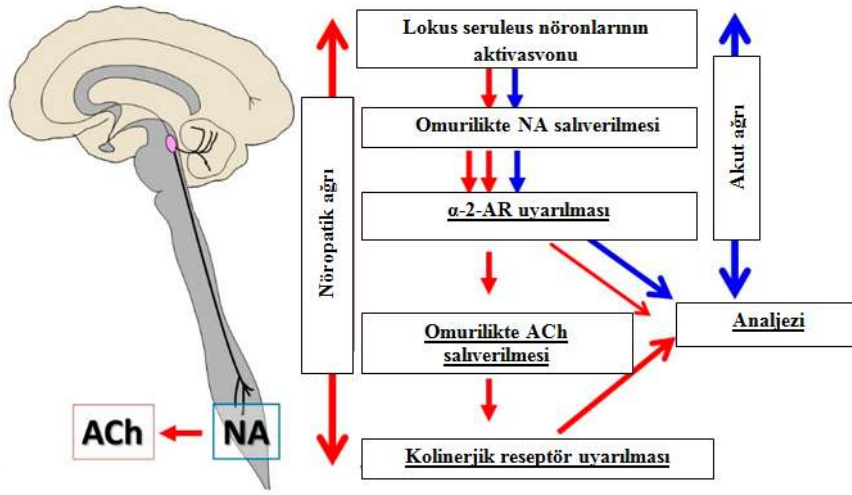
2.2.1. Ağrının Nöroanatomisi ve Nörofizyolojisi

Ağrının dönüşme (transdüksiyon), aşırım (transmisyon), düzenlenme (modülasyon) ve algılanma (persepsiyon) olmak üzere 4 aşaması vardır. Hasarlı bölgeden ağrı uyarana karşı prostaglandin, bradikinin, histamin ve glutamat gibi inflamasyon modülatörleri salınır. Bu maddeler nosiseptörlerin uyarılmasını kolaylaştırır. İlk aşama olan dönüşümde hücresel düzeydeki kimyasal bilgi elektrik sinyallerine dönüştürülür. Aşırım periferik sinir sisteminden gelen mekanik, kimyasal ve termal uyarıların nosiseptif özellikteki A-delta ve C tipi sinir lifleri ile santral sinir sistemine iletilmesidir. Bu lifler omuriliğin arka boynuzunda substansiya gelatinosa'da ağrı ve basınç, sıcaklık değişimi gibi duysal uyarıları taşıyan nöronlar ile sinaps yapar. A-delta duysal sinir lifleri ince ve miyelinsizdir, termal ve mekanik uyarıları hızlı bir şekilde, myelinsiz olan C grubu duysal sinir lifleri ise termal, mekanik ve kimyasal uyarıları daha yavaş bir şekilde taşır (Yam ve ark. 2018). Omurilikte duysal sinir liflerinin ucundan salıverilen P maddesi (substance P) ve benzeri nörokininler veya glutamat aracılığı ile ağrı impulsları ikinci sıra nöronlara taşınır. Enkefalinergic ara nöronlar presinaptik ve postsinaptik inhibisyon yaparak impulsun aşırımını baskı altında tutarlar. Bu işleyişte delta ve mü opioid reseptörleri görev yapar. İkinci ağrı nöronu aksonları karşı tarafa geçerek spinoalamik yolak ve spinoretikülodiensefalik yolağı oluşturur. Birinci çıkıcı yolak mezensefalonda periakvaduktal gri maddeye yan dal vererek talamusun ventral posterolateral çekirdeğinde sonlanır ve buradan çıkan üçüncü sıra nöron aksonları somestetik kortekse gider. Ağrı modülasyonu temel olarak bu yolakta oluşur (Yam ve ark. 2018) ve ağrının yer, şiddet ve zaman gibi ayırt ettirici boyutları ile algılanmasını sağlar. İkinci çıkıcı yolağı oluşturan aksonların büyük kısmı beyin sapında mediyal retiküler formasyondaki nöronlarda, az bir kısmı talamusun çekirdeklerinde sonlanır. Bu çekirdekler aracılığı ile korteksin tamamı ve hipotalamus ve medyal ön beyin demeti üzerinden limbik sistem uyarılır. Yolak ağrı yanıtının oluşmasını sağlar (Kayaalp 2012; Mun ve ark. 2018).

Supraspinal merkezlerden omuriliğin arka boynuzunda birinci ve ikinci ağrı nöronları arasındaki sinapslarda aşırımı inhibe eden inisiyasyon ağrı baskılama yolağı ağrının kontrolünü sağlar. Mezensefalonda bulunan opioid ve NMDA reseptörleri içeren

periakvaduktal gri maddedeki (Riedel ve Neeck 2001) nöronlardan başlayan olasılıkla enkefalinerjik aksonlar medulla oblongata'da bulunan serotonerjik nöron içeren rafe magnus çekirdeği ile sinaps yapar. Serotonerjik nöronların aksonları omuriliğin arka boynuzu ile trigeminus sinirinin duysal çekirdeğine gider. Bu yolak uyarıldığında omurilikte arka boynuzda serotonin açığa çıkar. Serotonin, reseptör alt tipine göre proprioseptif veya antinosiseptif etki gösterir (Enjin ve ark. 2012). Bu inisi yolak gama-amino-bütirik asit (GABA) ve glisin içeren nöronları da içerir (Kayaalp 2012).

İnisi yolağın ikinci bölümü endojen opioidler tarafından uyarılan pons ve medulla oblongata'daki retiküler formasyondaki çekirdeklerinden başlar. Lokus seruleus omuriliğinin arka boynuzuna inen noradrenerjik inhibitör sistem ağrı kontrolünde önemli rol oynar. Doğrudan veya dolaylı kolinerjik etki ile analjezi oluşturur. Lokus seruleus nöronlarının uyarılması omurilikte noradrenalin salıverilmesine ve alfa-2 adrenerjik reseptörler aracılığı ile analjezi oluşmasına neden olur. Kolinerjik nöronlardaki alfa-2 adrenerjik reseptörlerinde uyarılması asetilkolin salıverilmesine ve analjezik etkiye yol açar. Hayashida ve Obata (2019)'ya göre hayvan çalışmaları kronik ağrıda bu yolağın bozulduğunu göstermiş, sinir hasarlanmalarına bağlı nöropatik ağrılarda alfa-2 adrenerjik reseptörlerin inhibitör özelliklerini kaybettikleri ve eksitatör özellik kazandıkları öne sürülmüştür (Şekil 2-1). Gabapentin ve pregabalin gibi antiepileptikler GABA salıverilmesini baskılayarak ve glutamat salıverilmesine neden olarak lokus seruleusu uyarıp omurilikte noradrenalin düzeylerini artırır (Hayashida ve Obata 2019). Omuriliğe yerel olarak alfa-2-adrenerjik agonist klonidin veya noradrenerjik/serotonerjik sinir uçlarından nörotransmitter geri alımını engelleyen antidepresan uygulanması analjezik etki yapar (Milne ve ark. 1985; Kawamata ve ark. 1999).



Şekil 2-1: Lokus seruleus ve inisi noradrenerjik inhibitör yolak-Hayashida ve Obata (2019)'dan

NA: noradrenalin, AR: adrenerjik reseptör, ACh: asetilkolin

Ağrının modülasyonunda kolinerjik sistemin de rolü bulunur (Ghlerdani ve ark. 1997). Deney hayvanlarında santral muskarinik reseptörlerin uyarılmasının antinosiseptif yanıtı neden olduğu (Smith ve ark. 1989; Bartolini ve ark. 2011), asetilkolinesteraz inhibitörlerinin ve muskarinik agonistlerin spinal veya sistemik uygulanmasının ağrı eşiğini yükselttiği iyi bilinmektedir (Yaksh ve ark. 1985; Hartvig ve ark. 1989; Pavone ve ark. 1989; Xu ve Tseng 1994). Elektrofizyolojik çalışmalar kolinerjik reseptör agonistlerinin omurilik arka boynuz nöronlarında nöron aktivitesini baskıladığını göstermiştir (Urban ve ark. 1989). Anatomik çalışmalar nosiseptif aşırımın olduğu bölgelerde kolinerjik nöron ve reseptörlerin varlığını göstermiştir (Borges ve Iversen 1986; Wei ve ark. 1994). Kolinerjik analjezinin hem spinal hem de supraspinal mekanizmalara bağlı olduğu, morfin ile oluşan analjezinin şiddeti ile eşit olduğu, opioid analjezik kullanımına eşlik eden tolerans ve tutsaklığa daha az olasılıkla yol açtığı öne sürülmüştür (Wess ve ark. 2003). Sistemik morfin uygulamasının spinal asetilkolin salınımını artırması, antinosisepsiyonda opioidlerjik ve kolinerjik mekanizmalar arasında bir etkileşim olduğunu göstermektedir (Abe ve ark. 2002; Dulu ve ark. 2014). Muskarinik reseptörlerin silindiği (knock-out) fare soylarında yapılan çalışmalar kolinerjik sistemin ağrı iletiminin inhibisyonundaki rolünü desteklemiştir (Wess ve ark. 2003; Thomsen ve ark. 2018).

2.3. Hayvanlarda Ağrı Davranışını Değerlendirme Yöntemleri

İnsanlarda ağrı çalışmalarının yürütülmesi zor ve değerlendirme öznel olduğundan ve etik ilkeler ile kısıtlanma bulunduğundan, ağrı fizyopatolojisi ile ilgili mekanizmaların araştırmalarında yaygın olarak kemirgenler kullanılır (Deius ve ark. 2017). Hayvanlarda nosiseptif uyarana karşı davranışlar güvenilir ve nesnel biçimde derecelendirilebilmektedir. En güvenilir ve çoğunlukla derecelendirilebilir davranışlar inflamasyonlu pençeyi yalama gibi basit refleksler veya içgüdüsel yanıtlardır. Bu açıdan klinik ağrı yanıtı ile karşılaştırıldığında görünüş (face) geçerliliğinden yoksun görünürler. Bazı araştırmacılar temsili modelleri tercih eder, anestezi altındaki hayvanlarda veyain *vitro*ve *ex vivo* preparatlarda çalışırlar. Ancak, temel bilim araştırmalarında ve yeni analjezik molekül geliştirmede davranışsal farmakolojiden yararlanma giderek yaygınlaşmıştır (Mogil 2009).

Hayvanlarda akut nosiseptif yanıt yanı sıra kronik ağrı da değerlendirilir. Bu amaçla, inflamatuvar akut ağrı modelleri, periferik nöroinflamasyon modeli veya kronik eklem ağrısı modelleri kullanılır. Soy, cinsiyet, genetik, beslenme, sabitleme, ele alma, enjeksiyon, kafesteki hayvan sayısı, yeni çevreye ortam ısısı gibi bazı faktörler bireysel nosiseptif yanıt değişikliğine yol açabilir (Mogil 2009).

Fare ve sıçanlarda nosisepsiyonu ölçmek için kullanılan davranışsal yöntemler uyaranlı veya uyaransız olmak üzere 2 gruba ayrılır. Uyaransız ağrı (kendiliğinden oluşan, arka planda ağrı) tanımlanabilir bir uyarın olmadan ortaya çıkan ağrıdır. Yeni yöntemler ile ağrıya bağlı yüz buruşturma, yürüyüş bozukluğu, ağrı oluşturan mekanik uyarının bulunduğu alandan kaçış gibi bazı değişiklikler izlenmekte, otomatik analiz ile uyaransız nosisepsiyon değerlendirilebilmektedir (Tappe-Theodor ve Kuner 2014). Uyarın ile oluşan nosisepsiyonu ölçen yöntemler, uyarının mekanik, sıcak veya soğuk olmasına göre sınıflandırılır (Deuis ve ark. 2017). Mekanik uyarana bağlı sakınma davranışının varlığı ve büyüklüğü Von Frey veya Randall-Selitto testi ile ölçülür. Isı uyarısında kuyruk çekme, kızgın levha, Hargreaves ve ısı (termal) prop (çubuk) testleri kullanılır. Nosiseptif yanıt ölçümünde soğuk levha testi, aseton buharlaştırma testi gibi soğuk uyarın testlerinden de yararlanılmaktadır. Isı uyarına bağlı tüm bu testlerde doku zedelenmesine neden olmamak için önceden belirlenmiş süre dolunca test sonlandırılır.

2.4. Uyarana İle Oluşan Ağrı Benzeri Davranışlar

Hayvanlarda mekanik uyarana bağlı sakınma davranışının varlığı ve büyüklüğü Von Frey veya Randall-Selitto testi ile ölçülür. Von Frey testinde Von Frey filamentleri kullanılır (Crocker ve Russell 1984; Chaplan ve ark. 1994). Test için hayvanlar zemini gözenekli bir kafese yerleştirilir. Farklı güçte monofilamentler arka pençeye uygulanır, eğer hayvan pençesini çeker, yalar veya sallarsa pozitif yanıt alınmış sayılır. Kaşınma refleksini uyarmamak için filament dik ve sarsmadan uygulanır. Test elektronik olarak da uygulanabilmektedir. Randall-Selitto testinde ise ucunda batıcı bir çıkıntının olduğu bir pens ile arka pençesi sıkıştırılan hayvanın ayağını çektiği veya ses çıkardığı (vocalization) ana kadar basınç uygulanır (Randall ve Selitto 1957). Çekme yanıtı araştırmacı tarafından görsel olarak saptandığı için mekanik ağrı eşiği ölçümü öznelidir. Pençe çekme eşiği spinal refleks ölçümü olarak da kabul edilebildiğinden bazı araştırmacılar hayvanın ses çıkarmasını testin bitiş noktası olarak kullanırlar (Winter ve Flateker 1965). Ancak kemirgenler ağrı şiddetli olmadıkça işitilebilir aralıkta ses çıkarmazlar, bu durum ses çıkarmanın bitiş noktası olarak kullanılmasını etik olarak sınırlar. Randall-Selitto testi von Frey filament testleri ile aynı sonuçları verse de, nosiseptörler yanı sıra düşük eşikli mekanoreseptörlerin de uyarılmasına neden olur (Deius ve ark. 2017).

Kuyruk çekme testi ilk kez 1941'de tanımlanmıştır (D'Amour ve Smith 1941). Fare veya sıçanların kuyruğuna belirli sıcaklıkta bir ısı uyarını uygulandığında kuyruğun çekilme veya kıvrılmasına kadar geçen sürenin saptandığı bir yöntemdir. Kuyruk, sıcaklığı 46-52°C'de sabit tutulan bir sıcak su banyosuna daldırılır veya ucuna radyan ışın uygulanır. Hızlı ve uygulanması kolay bir yöntemdir. Kuyruk çekme yanıtının yüksek merkezleri içermediği (Irwin ve ark. 1951), spinal bir refleks olduğu bu nedenle motor bozukluklardan etkilenmeyeceği (Chapman ve ark. 1985) ileri sürülmüş ise de supraspinal merkezlerin de yanıtın oluşmasında katkısının olduğu gösterilmiştir (Jensen ve Yaksh 1986). Derinin ve ortamın sıcaklığı, uyarının uygulandığı kuyruk bölgesi ve öğrenilmiş sakınma davranışı çekme yanıtını etkiler (Yoburn ve ark. 1984; Berge ve ark. 1988). Bu nedenle testin kliniğe çevrimselliği açık değildir (Deius ve ark. 2017).

Kızgın levha testi ilk olarak 1944 yılında fare ve sıçanlarda sıcaklık eşiğini saptamak için tanımlanmıştır (Woolfe ve MacDonald 1944). Geleneksel kızgın levha testinde, fare veya sıçanlar yüzey ısısı 50-55°C'de sabit tutulan bir metal levha üzerine

konulur ve nosiseptif davranışın ortaya çıkmasına kadar geçen süre kaydedilir. Ön pençeyi çekme veya yalama, arka pençeyi çekme veya yalama, yukarı doğru uzanma ve zıplama nosiseptif davranış olarak kabul edilir (Espejo ve Mir 1993). Ön pençe süslenme (grooming) ve çevrenin incelenmesinde kullanıldığı ve metal yüzey ile sürekli temasta olmadığı için genellikle arka pençeden daha önce çekilse bile arka pençenin çekilmesi veya yalanması nosisepsiyon için daha güvenilir bir gösterge olarak kabul edilir (Minett ve ark. 2011). Dinamik kızgın levha testinde geleneksel sabit ısıdaki testten farklı olarak giderek artan ısı uygulanır. Fare veya sıçan rahatsız edici sıcaklıkta olmayan ($<42^{\circ}\text{C}$) bir metal yüzeyin üzerine konulur ve nosiseptif yanıt alınana kadar ısı yükseltilir. Yanıtın ortaya çıktığı sıcaklık, başlangıç sıcaklığı, ortam sıcaklığı ve sıcaklığı artırma hızı ile ilişki gösterir (Ogren ve Berge 1984). Testlerde kullanılan hayvanın türü ve soyuna bağlı olarak bazılarının analjezik maddeye duyarlılıkları farklılık gösterebilen koklama, süslenme, donma, uzanma, sıçrama, yalama dahil olmak üzere en az 12 farklı davranış izlenmiştir. Örneğin pençe yalamayı opioidler azaltırken diğer analjezikler etkisiz kalmaktadır (Ankier 1974; Plone ve ark. 1996). Bu değişikliklerin nedeninin farklı duyuşal liflerin etkilenmesi olabileceği öne sürülmüştür (Yeomans ve ark. 1996). Testte nosiseptif yanıtın ortaya çıkışında spinal ve supraspinal mekanizmaların rolüne ilişkin farklı görüşler bulunmaktadır (Deuis ve ark. 2017).

İlk kez 1988'de tanımlanan Hargreaves testinde fare ve sıçanların arka pençelerinin tabanına uygulanan radyan veya kızılötesi ışınına karşı ısı eşiği ölçülür. (Hargreaves ve ark. 1988). Nosiseptif yanıt olarak ayak çekme süresi kaydedilir. Test aynı taraftaki (ipsilateral) veya karşı taraftaki (kontralateral) ısı eşiğinin ölçümüne olanak sağlar. Yeni bir test olan ısıl prop (çubuk) testinde ise oda sıcaklığından 60°C 'ye kadar kademeli olarak ısıtılan bir prop farenin arka ayağına değdirilir ve ayak çekme süresi otomatik olarak saptanır. Hargreaves testinde olduğu gibi ısı eşiği iki taraflı ölçülebilir. Isıl prob testinin önemli bir üstünlüğü test ortamına alışma süresinin çok kısa olmasıdır (Deius ve Vetter 2016).

Soğuk yüzey testinde genellikle -5°C - 15°C arasında soğuk bir yüzeyin üzerine konulan fare ve sıçanlarda titreme, zıplama, kaçma ve ayak yalama gibi nosiseptif yanıtın görülmesine kadar geçen süre kaydedilir (Allchorne ve ark. 2005). Kızgın levha testinden farklı olarak tek bir pençenin etkilendiği modellerde hayvanın sadece tek tarafında oluşan duyarlılık saptanabilir.

Aseton buharlaştırma testi buharlaşırken soğuyan bir uyarana karşı sakınma davranışı ölçmek için kullanılır (Carlton ve ark. 1994). Delikli bir yüzey üzerine konulan hayvanın arka pençesinin tabanına, deri sıcaklığına zararsız olan 15-21°C'lere kadar soğumasına yol açan aseton sürülür veya püskürtülür. Isı duyarlılığı nosiseptif yanıtların sayısı veya şiddeti ile değerlendirilir. Hayvanların kokudan ve sprey uygulamasından rahatsız olmaları testin duyarlılığını azaltır.

Von Frey, Hargreaves, ısıl prop, soğuk yüzey ve aseton buharlaştırma testleri allodini ölçümünde, Randall-Selitto ve soğuk yüzey testleri hiperaljezi ölçümünde ve aseton buharlaştırma testi inflamatuvar ve nöropatik ağrı modellerinde kullanılır.

2.5. Oksotremorin

Katerner amin türevi olan oksotremorin sentetik bir maddedir. Periferik kolinerjik etkili tremorinin metabolitidir. Tremor ve rijidite yapıcı etkisi vardır (Jurna ve ark. 1970). Bu nedenle deney hayvanlarında parkinson oluşturmak için kullanılır (Fukuzaki ve ark. 2000). Etki süresi uzun olup metiyodid ve seskifumarat tuzu halinde bulunur. Kan-beyin engelini metiyodid tuzu az geçer (Sethy ve Francis 1990). Muskarinik reseptörlerde agonist etki gösterir. Etkisi seçici değildir. Presinaptik ve postsinaptik uçta M₁, M₂ ve M₄ muskarinik reseptörleri uyarır (Meyer ve Olore 1985; Davis ve ark. 2009; Nadal ve ark. 2016). Otoresseptörlere etkisine bağlı olarak oksotremorin uygulanmasından sonra beyinde asetilkolin salıverilmesinde azalma (Murakami ve ark. 1996) veya artış (Abelson ve Höglund 2002b) saptanmıştır. Oksotremorin deney hayvanlarında antinosiseptif etki gösterir (Wess ve ark. 2003), vücut ısını düşürür (Lomax ve Jenden 1966), belleği güçlendirir (Baratti ve ark. 1983), konvülsiyon oluşumunu azaltır (Koja ve ark. 1983) veya konvülsiyon oluşturur (Turski ve ark. 1983).

2.6. Amitriptilin

Amitriptilin depresyon tedavisi için geliştirilmiş bir antidepresandır. Molekül çekirdeğinde üç halka (iminodibenzil) içerdiği için trisiklik antidepresan grubunda içinde yer alır. Noradrenerjik ve serotonerjik sinir uçlarında noradrenalin ve serotonin geri alımını sağlayan taşıyıcıları güçlü bir biçimde engelleyerek antidepresan etki gösterir. Depresyonu olmayan hastalarda da fibromiyaljive nöropatik ağrı gibi çeşitli ağrı tiplerinin tedavisinde uzun yıllardır kullanılmaktadır (Sindrup ve ark. 2005; Kim Lawson 2017). Morfin ile birlikte verildiğinde analjezik etkiyi güçlendirir. Bu etkinin

ağrı ile ilgili yolaklarda serotonin etkinliğinin artmasına bağlı olabileceği öne sürülmüştür (Botney ve Fields 1983). Amitriptilin antikolinergik etki gösterir. Ağız kuruluğu, kabızlık, işeme güçlüğü, yakını görmede bozukluk, taşikardi gibi periferik atropin-benzeri istenmeyen etkiler oluşturur. Tremor, baş ağrısı, sedasyon yapar. Yüksek dozda konvulsiyonlara, konfüzyona neden olabilir. Hiponatremi, cinsel işlev bozukluğu yapabilir. Ağız yolu ile alındığında iyi emilir, karaciğerde ilk geçişte eliminasyona uğrar, bu nedenle biyoyararlanımı %30-69 arasında değişir. Sitokrom P-450 enzimleri ile metabolize olur. Amitriptilinden demetilasyon ile oluşan nortriptilin etkin bir metabolittir. Amitriptilinin değişmeden atılan bölümü %5'ten azdır. Eliminasyon yarılanma ömrü 20-28 saat olup hastalar arasında büyük değişiklik gösterir (Kayaalp 2012; Katzung 2018).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Deney Hayvanları

Çalışmada, İstanbul Üniversitesi Aziz Sancar Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü, Laboratuvar Hayvanları Bilimi Anabilim Dalında üretilen 25-32 g ağırlığında erişkin 55 adet Balb/c erkek fare kullanıldı. Hayvanlar, uygun büyüklükteki şeffaf plastik kafeslerde 6-8 tanesi bir arada olmak üzere, sıcaklığı 21-23°C olan ve 12 saat aydınlık-karanlık (07.00-19.00) ritminin uygulandığı bir ortamda barındırıldı. Barındırma ve deneyler sırasında su ve yem alımı serbest bırakıldı. Deney koşullarına alıştırmak için hayvanlar deney öncesi bir hafta gün aşırı ele alındı. Deneyler standart laboratuvar koşullarında yürütüldü. Çalışmanın etik kurul ilkelerine uygun olduğu İstanbul Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulunun 25.07.2019 tarihli, 2019/04 sayılı kararı ile onaylanmıştır.

3.2. Droglar ve Uygulamalar

Oksotremorin seskifumarat (Sigma, St Louis, MO), amitriptilin hidroklorür (Sigma, St Louis, MO), morfin hidroklorür (Sigma, St Louis, MO) ve nalokson hidroklorür (Sigma, St Louis, MO) serum fizyolojik içinde çözüldü. İnjesiyonlar 4 ml/kg vücut ağırlığı olarak yapıldı. Çözeltiler her gün taze hazırlandı. Pelet uygulamasında Marmara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalında hazırlanmış olan plasebo ve morfin peletleri kullanıldı. Gibson ve Tingstad (1970)'a uygun olarak morfin peletleri için 75 mg baz morfin, 75 mg mikrokristalize selüloz (Avicel), 1,5 mg kalsiyum stearat ve 0,75 mg silikon dioksit ve plasebo peletleri 150 mg mikrokristalize selüloz, 1,5 mg kalsiyum stearat ve 0,75 mg silikon dioksit karıştırıldı. Çapı 6 mm ve kalınlığı 3 mm olan peletler hazırlandı. Peletler %2,5'luk izofloran anestezisi altında küçük bir insizyon yapılarak sırt derisi altına yerleştirildi (McNally ve Akil 2003).

3.3. Kızgın Levha Testi

Test, yüzey sıcaklığı 52,5±0,5°C ve yüzey alanı 35x50 cm olan 8 cm yüksekliğinde, dikdörtgen bir metal ısıtıcı levhada yapıldı. Levha üzerine konulan hayvanın arka ayağını çekmesine veya sıçramasına kadar geçen süre bir kronometre ile saptandı. Sonuçlar ayak çekme süresi olarak verildi. Doku hasarını önlemek için

sonlandırma (testi kesme) süresi 40 saniye olarak belirlendi (Gades ve ark. 2000; Tayebi ve ark. 2008).

3.4. Kuyruk Daldırma Testi

Stres oluşturmamaya dikkat edilerek fare sabitleyici bir kafese konuldu (Tai ve ark. 2006). Kafes, kuyruk kenardan aşağıya sarkacak şekilde bir masanın üzerine yerleştirildi. Kuyruğun ucundan itibaren yaklaşık 2,5-3 cm'lik bölümü, içinde $52,5 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ sıcaklığında su olan bir behere yavaşça daldırıldı. Hayvanın kuyruğunu çekme süresi kronometre ile saptandı. Test, 10 saniye ara verilerek 3 kez tekrarlandı. Her ölçüm sonrası kuyruk pamuk ile kurulandı. Doku hasarını önlemek için testi sonlandırma süresi 10 saniye olarak belirlendi (Stone ve ark. 1997; Wess ve ark. 2003; Stone ve ark. 2014). Sonuçlar için 3 ölçümün ortalaması kullanıldı.

Kızgın levha ve kuyruk daldırma testlerinde sonuçlar; ayak veya kuyruk çekme süreleri veya aşağıdaki formül ile hesaplanan maksimum olası etki (maximum possible effect; %MPE) olarak verildi (Brady ve Holtzman 1982; Stone ve ark. 2014).

$$\%MPE = \frac{(\text{drog uygulama sonrası çekme süresi} - \text{drog uygulama öncesi çekme süresi})}{(\text{sonlandırma süresi} - \text{drog uygulama öncesi çekme süresi})} \times 100$$

3.5. Deneylerin Yürütülmesi

Deneyler 4 gün sürdü. Serum fizyolojik, oksotremorin ve amitriptilin uygulamaları her sabah 08.30 ve 16.30 saatlerinde yapıldı.

3.5.1. Amitriptilinin ve oksotremorinin farelerde ağrı eşiğine etkilerinin değerlendirilmesi

Birinci gün fareler tartıldı ve izleme kafeslerine alındı. Bazal ölçümler için 5 dakika sonra sırası ile kızgın levha ve kuyruk daldırma testleri uygulandı. İki test arası 1 dakika beklendi. Ölçümlerden sonra deri altı yolu ile serum fizyolojik, 10 mg/kg amitriptilin, 0,1 mg/kg oksotremorin veya 10 mg/kg amitriptilin ile birlikte 0,1 mg/kg oksotremorin enjeksiyonları yapılarak sırası ile kontrol, amitriptilin, oksotremorin ve amitriptilin-oksoxtremorin grupları oluşturuldu. Otuz dakika sonra kızgın levha ve kuyruk daldırma testleri tekrarlandı.

3.5.2. Amitriptilinin ve oksotremorinin farelerde morfine tolerans gelişmesine etkilerinin değerlendirilmesi

3.5.2.1. Morfinin antinosiseptif etkisinin zamana göre seyrinin değerlendirilmesi

Ağrı eşiği ölçümünün hemen ardından plasebo veya morfin peletleri yerleştirilerek kontrol-plasebo, amitriptilin-plasebo, oksotremorin-plasebo, amitriptilin-oksotremorin-plasebo, kontrol-morfin, amitriptilin-morfin, oksotremorin-morfin ve amitriptilin-oksotremorin-morfin grupları oluşturuldu. Denek sayısı plasebo gruplarında 6, morfin gruplarında 8 oldu. Uygulamadan 4, 48 ve 72 saat sonra kızgın levha ve kuyruk çekme testleri tekrarlandı.

3.5.2.2. Ek doz morfine yanıtın değerlendirilmesi

Ek doz morfin etkisi (morphine challenge) için plasebo ve morfin gruplarındaki tüm farelere 72 saat sonraki ölçümlerin hemen ardından deri altı yolu 10 mg/kg morfin uygulandı. Kırk dakika sonra kızgın levha ve kuyruk daldırma testleri tekrarlandı. Morfin verilmesinden önceki ve sonraki değerler kullanılarak %MPE oluşturuldu.

3.5.3. Amitriptilinin ve oksotremorinin farelerde morfine bağımlılık gelişmesine etkilerinin değerlendirilmesi

Ek doz morfin uygulamasından 2 saat sonra fareler tartıldı. Hemen ardından deri altı yolu ile 1 mg/kg nalokson uygulandı ve hayvanlar tek başlarına izleme kafeslerine (20x25x20 cm) alındı. On beş dakika izlenen hayvanlarda sıçrama, uçma ve ıslak köpek silkelmesi sayıldı. Göz kapağında düşme (pitozis) ve ishal 1'den 3'e ve dış gıcırdatma 1'den 10'a derecelendirildi. İşeme ve ön pençe tremoru var-yok (1-0) olarak değerlendirildi. İzleme süresi sonunda hayvanlar tekrar tartıldı ve ağırlık kaybı saptandı. Sıçrama dışındaki belirtilerin verileri 'diğer belirtiler' olarak biraraya getirilerek değerlendirildi.

3.6. İstatistiksel Değerlendirme

Dağılımlarına uygun olarak ağrı eşiği verileri tek yönlü varyans analizi (ANOVA) veya Kruskal-Wallis ile değerlendirildi. Grup karşılaştırmalarında Tukey veya Dunn testi kullanıldı. Ağrı eşiğinde zamana bağlı etki tekrarlı ölçümlerde tek yönlü varyans analizi ile değerlendirildi. Grup karşılaştırmalarında Newman-Keuls testi kullanıldı. Anlamlılık değeri olarak $p < 0,05$ kabul edildi. Değerler ortalama±standart hata olarak verildi.

4. BULGULAR

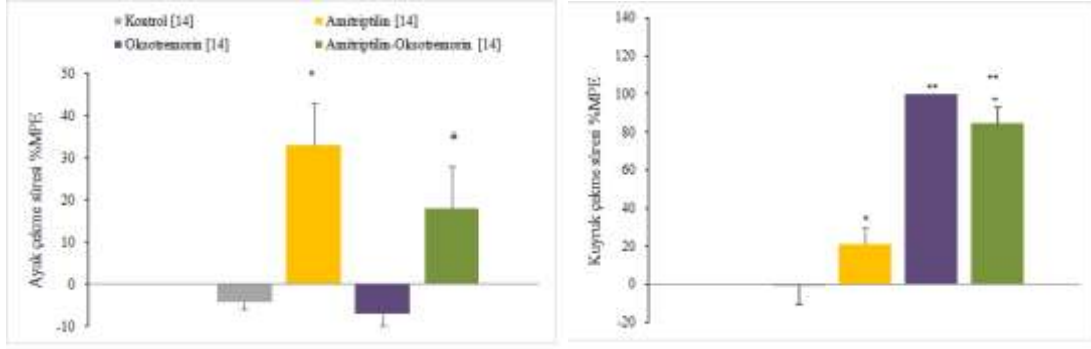
4.1. Amitriptilinin ve oksotremorinin farelerde ağrı eşiğine etkileri

Kontrol ($4,75 \pm 0,48$; $2,1 \pm 0,11$), amitriptilin ($5,14 \pm 0,63$; $1,9 \pm 0,09$), oksotremorin ($5,79 \pm 0,56$; $2,1 \pm 0,25$) ve amitriptilin-oksotremorin ($5,79 \pm 0,74$; $2,2 \pm 0,10$) gruplarında ayak ve kuyruk çekme ortalama bazal değerleri fark göstermedi.

Kontrol, amitriptilin, oksotremorin ve amitriptilin-oksotremorin gruplarında kızgın levha ve kuyruk daldırma testlerinde ağırlı uyarana yanıt Şekil 4-1’de gösterilmiştir.

Tek yönlü varyans analizine göre kızgın levha testinde uygulamaya bağlı anlamlı fark saptandı [$F(3,48)=6,25$; $p=0,0013$]. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, ayak çekme süresinde %MPE amitriptilin grubunda arttı ($p<0,05$), oksotremorin ve amitriptilin-oksotremorin gruplarında fark göstermedi. Amitriptilin grubu ile karşılaştırıldığında, amitriptilin-oksotremorin grubunda %MPE değişmedi. Amitriptilin-oksotremorin grubunda %MPE, oksotremorin grubuna göre daha uzun oldu ($p<0,05$).

Tek yönlü varyans analizine göre kuyruk daldırma testinde uygulamaya bağlı anlamlı fark saptandı [$F(3,48)=73,64$; $p<0,0001$]. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, kuyruk çekme süresinde %MPE amitriptilin ($p<0,05$), oksotremorin ($p<0,001$) ve amitriptilin-oksotremorin ($p<0,001$) gruplarında daha fazla oldu. Oksotremorin grubu ile karşılaştırıldığında, oksotremorin-amitriptilin grubunda %MPE fark göstermedi. Amitriptilin-oksotremorin grubunda %MPE, amitriptilin grubuna göre daha uzun oldu ($p<0,001$).



Şekil 4-1: Amitriptilinin ve oksotremorinin farelerde ağrı eşiğine etkileri.

Serum fizyolojik (kontrol), 10 mg/kg amitriptilin, 0,1 mg/kg oksotremorin veya amitriptilin ile birlikte oksotremorin uygulanan (s.c.) farelerde 30 dakika sonra kızgın levha testinde (solda) ve 1 dakika sonra kuyruk daldırma testinde (sağda) ağrı eşiği ölçüldü. Ağrı eşiğinde %MPE, bazal ölçümler kullanılarak hesaplandı.

[]: gruptaki hayvan sayısı

*p<0,05, **p<0,001, kontrol grubuna göre (Tukey testi)

#p<0,05, oksotremorin grubuna göre (Tukey testi)

+p<0,001, amitriptilin grubuna göre (Tukey testi)

4.2. Amitriptilinin ve oksotremorinin farelerde morfine tolerans gelişmesine etkileri

4.2.1. Morfinin antinosiseptif etkisinin zamana göre seyri

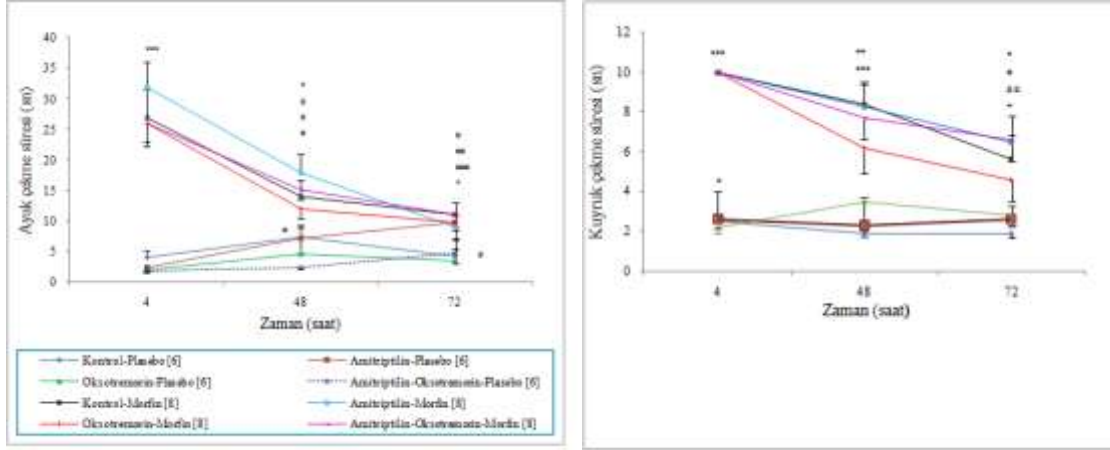
Kontrol, amitriptilin, oksotremorin ve amitriptilin-oksotremorin gruplarında plasebo veya morfin peleti uygulanmasından 4, 48 ve 72 saat sonra yapılan ölçümlerde kızgın levha ve kuyruk daldırma testlerinde ağırlı uyarana yanıt Şekil 4-2’de gösterilmiştir.

Tek yönlü varyans analizine göre kızgın levha testinde 4 [F(7,48)=17; p<0,0001] ve 48 [F(7,48)=6,6; p<0,0001] saat sonra yapılan ölçümlerde uygulamaya bağlı anlamlı fark saptandı, 72 saat sonra bir değişiklik ortaya çıkmadı [F(7,48)=1,8; p=0,1119]. Kontrol-plasebo grubu ile karşılaştırıldığında, kontrol-morfin, amitriptilin-morfin, oksotremorin-morfin ve amitriptilin-oksotremorin-morfin gruplarında ayak çekme süresi 4 saat sonra daha fazla oldu (p<0,001). Kontrol-plasebo grubu ile karşılaştırıldığında, amitriptilin-morfin grubunda ayak çekme süresi 48 saat sonra daha fazla oldu (p<0,05), kontrol-morfin, oksotremorin-morfin ve amitriptilin-oksotremorin-morfin gruplarında değişmedi. Kontrol-morfin grubuna göre amitriptilin-morfin, oksotremorin-morfin ve amitriptilin-oksotremorin-morfin gruplarında 4 ve 48 saat sonra ayak çekme süresinde fark ortaya çıkmadı. Kontrol plasebo grubuna göre diğer plasebo gruplarında fark saptanmadı.

Tekrarlı ölçümlerde varyans analizine göre kızgın levha testinde 4, 48 ve 72 saat sonra kontrol-morfin [$F(2,5)=9,5$; $p=0,0049$], amitriptilin-morfin [$F(2,5)=21$; $p=0,0003$], oksotremorin-morfin [$F(2,5)=6$; $p=0,0195$], amitriptilin-oksotremorin-morfin [$F(2,5)=6,2$; $p=0,0180$] ve kontrol-plasebo [$F(2,5)=5,9$; $p=0,02$] gruplarında zamana bağlı anlamlı fark saptandı. Kontrol-morfin grubunda 4 saat sonraki ölçümlere göre 48 ve 72 saat sonra ($p<0,01$), amitriptilin-morfin grubunda 4 saat sonraki ölçümlere göre 48 ($p<0,01$) ve 72 ($p<0,001$) saat sonra ve 48 saat sonraki ölçümlere göre 72 saat sonra ($p<0,05$), oksotremorin-morfin ve amitriptilin-oksotremorin-morfin gruplarında 4 saat sonraki ölçümlere göre 48 ve 72 saat sonra ($p<0,05$) ayak çekme süresi daha az oldu. Kontrol-plasebo grubunda ayak çekme süresi 4 saat sonraki ölçümlere göre 48 saat sonra arttı, 48 saat sonraki ölçümlere göre 72 saat sonra kısaldı ($p<0,05$).

Tek yönlü varyans analizine göre kuyruk daldırma testinde 4 [$F(7,48)=84$; $p<0,0001$], 48 [$F(7,48)=6,4$; $p<0,0001$] ve 72 [$F(7,48)=3,9$; $p<0,0001$] saat sonra yapılan ölçümlerde uygulamaya bağlı anlamlı fark saptandı. Kontrol-plasebo grubu ile karşılaştırıldığında, kontrol-morfin grubunda 4 ve 48 saat sonra ($p<0,001$), amitriptilin-morfin grubunda 4 ($p<0,001$), 48 ($p<0,01$) ve 72 ($p<0,05$) saat sonra, oksotremorin-morfin grubunda 4 saat sonra ($p<0,001$) ve amitriptilin-oksotremorin-morfin grubunda 4 ($p<0,001$), 48 ($p<0,01$) ve 72 ($p<0,05$) saat sonra kuyruk çekme süresi daha fazla oldu. Kontrol-morfin grubu ile karşılaştırıldığında, amitriptilin-morfin, oksotremorin-morfin ve amitriptilin-oksotremorin-morfin gruplarında 4, 48 ve 72 saat sonra fark ortaya çıkmadı. Kontrol plasebo grubunun diğer plasebo grupları ile karşılaştırılmasında, amitriptilin-oksotremorin-plasebo grubunda 4 saat sonra kuyruk çekme süresinin daha fazla olması dışında bir değişiklik saptanmadı ($p<0,05$).

Tekrarlı ölçümlerde varyans analizine göre kuyruk daldırma testinde 4, 48 ve 72 saat sonra, oksotremorin-morfin [$F(2,5)=8,9$; $p=0,006$] ve amitriptilin-oksotremorin-morfin [$F(2,5)=6,6$; $p=0,0152$] gruplarında zamana bağlı anlamlı fark saptandı, kontrol-morfin [$F(2,4)=2,5$; $p=0,1403$] ve amitriptilin-morfin [$F(2,5)=3,8$; $p=0,0595$] gruplarında fark ortaya çıkmadı. Oksotremorin-morfin grubunda 4 ($p<0,01$) ve 48 ($p<0,05$) saat sonraki ve amitriptilin-oksotremorin-morfin grubunda 4 saat sonraki ($p<0,05$) ölçümlere göre 72 saat sonra kuyruk çekme süresi kısaldı.



Şekil 4-2: Morfinin farelerde ağrı eşğine etkisinin zamana göre seyrine amitriptilinin ve oksotremorinin etkileri.

Üç gün günde 2 kez serum fizyolojik, 10 mg/kg amitriptilin, 0,1 mg/kg oksotremorin veya amitriptilin ile birlikte oksotremorin verilen (s.c.) ve birinci gün ölçümlerin ardından plasebo veya morfin peleti konulan farelerde, 4, 48 ve 72 saat sonra kızgın levha testinde (solda) ve 1 dakika sonra kuyruk daldırma testinde (sağda) ağrı eşği ölçüldü.

[]: gruplardaki hayvan sayısı

*p<0,05, **p<0,01, ***p<0,001, kontrol-plasebo grubuna göre (Tukey testi)

#p<0,01, ##p<0,001, 4 saat sonraki ölçüme göre (Newman-Keuls testi)

+p<0,05, 48 saat sonraki ölçüme göre (Newman-Keuls testi)

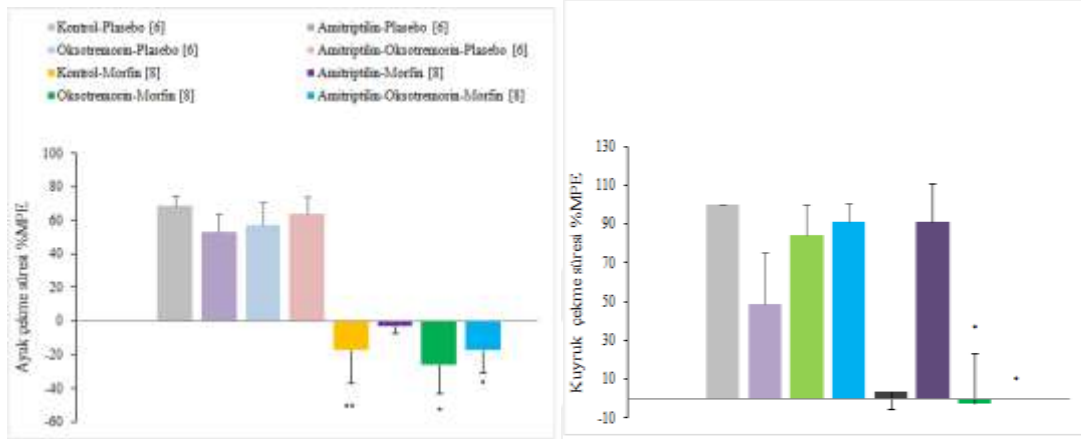
4.2.2. Ek doz morfine yanıt

Kontrol, amitriptilin, oksotremorin ve amitriptilin-oksotremorin gruplarına plasebo veya morfin peleti uygulanmasından 72 saat sonra ek doz morfin uygulanmasında kızgın levha ve kuyruk daldırma testlerinde ağırlı uyarana yanıt Şekil 4-3'te gösterilmiştir.

Kruskal-Wallis analizine göre kızgın levha testinde gruplar arasında ek doz morfine bağlı anlamlı fark saptandı ($\chi^2=38,38$, s.d=7; p<0,0001). Kontrol-plasebo grubu ile karşılaştırıldığında, kontrol-morfin (p<0,01), oksotremorin-morfin ve amitriptilin-oksotremorin-morfin (p<0,05) gruplarında ayak çekme süresinde %MPE daha az oldu, amitriptilin-morfin grubunda değişmedi. Kontrol-morfin grubu ile karşılaştırıldığında, amitriptilin-morfin, oksotremorin-morfin ve amitriptilin-oksotremorin-morfin gruplarında %MPE fark göstermedi. Kontrol-plasebo grubu ile karşılaştırıldığında, diğer plasebo gruplarında fark ortaya çıkmadı.

Kruskal -Wallis analizine göre kuyruk daldırma testinde gruplar arasında ek doz morfine bağlı anlamlı fark saptandı ($\chi^2=23,13$, s.d=7; p<0,0016). Kontrol-plasebo grubu ile karşılaştırıldığında, oksotremorin-morfin ve amitriptilin-oksotremorin-morfin

gruplarında kuyruk çekme süresinde %MPE daha az oldu ($p<0,05$), kontrol-morfin ve amitriptilin-morfin gruplarında değişmedi. Kontrol-morfin grubu ile karşılaştırıldığında, amitriptilin-morfin, oksotremorin-morfin ve amitriptilin-okstremorin-morfin gruplarında %MPE fark göstermedi. Kontrol-plasebo grubu ile karşılaştırıldığında, diğer plasebo gruplarında fark ortaya çıkmadı.



Şekil 4-3: Morfinin farelerde ağrı eşiğine etkisine tolerans gelişmesine amitriptilinin ve oksotremorinin etkilerinde ek doz morfine yanıt.

Üç gün günde 2 kez serum fizyolojik, 10 mg/kg amitriptilin, 0,1 mg/kg oksotremorin veya amitriptilin ile birlikte oksotremorin verilen (s.c.) farelere, plasebo veya morfin peleti konulmasından 72 saat sonraki ağrı eşiği ölçümlerinin ardından 10 mg/kg morfin verildi (s.c). Kırk dakika sonra kızgın levha testinde (solda) ve 1 dakika sonra kuyruk daldırma testinde (sağda) ağrı eşiği ölçüldü. Ağrı eşiğinde %MPE, 72 saat sonraki ölçümler kullanılarak hesaplandı.

[]: gruplardaki hayvan sayısı

* $p<0,05$, ** $p<0,01$, kontrol-plasebo grubuna göre (Dunn testi)

4.2.3. Amitriptilinin ve oksotremorinin farelerde morfine bağımlılık gelişmesine etkileri

Kontrol, amitriptilin, oksotremorin ve amitriptilin-okstremorin gruplarında plasebo veya morfin peleti uygulanmasından 72 saat sonra yapılan ölçümlerin ardından naloksona bağlı yoksunluk belirtileri Tablo 4-1'de gösterilmiştir.

Tek yönlü varyans analizine göre ağırlık kaybında [$F(7,48)=6,3$; $p<0,0001$], sıçramada [$F(7,48)=10,69$; $p<0,0001$] ve diğer belirtilerde [$F(7,48)=18$; $p<0,0001$] uygulamaya bağlı anlamlı fark saptandı.

Kontrol-plasebo grubu ile karşılaştırıldığında, kontrol-morfin, oksotremorin-morfin ve amitriptilin-okstremorin-morfin gruplarında ağırlık kaybı fark göstermedi, amitriptilin-morfin grubunda ağırlık kaybı daha fazla oldu ($p<0,01$). Kontrol-morfin grubu ile karşılaştırıldığında, amitriptilin-morfin, oksotremorin-morfin ve amitriptilin-

oksotremorin-morfin gruplarında ağırlık kaybı fark göstermedi. Kontrol-plasebo grubu ile karşılaştırıldığında, diğer plasebo gruplarında değişiklik ortaya çıkmadı.

Kontrol-plasebo grubu ile karşılaştırıldığında, kontrol-morfin ($p<0,05$), amitriptilin-morfin ($p<0,001$), oksotremorin-morfin ($p<0,001$) ve amitriptilin-oksotremorin-morfin ($p<0,05$) gruplarında sıçrama sayısı daha fazla oldu. Kontrol-morfin grubu ile karşılaştırıldığında, amitriptilin-morfin, oksotremorin-morfin ve amitriptilin-oksotremorin-morfin gruplarında sıçrama sayısı fark göstermedi. Kontrol-plasebo grubu ile karşılaştırıldığında, diğer plasebo gruplarında değişiklik ortaya çıkmadı.

Kontrol-plasebo grubu ile karşılaştırıldığında, kontrol-morfin ($p<0,001$), amitriptilin-morfin ($p<0,001$), oksotremorin-morfin ($p<0,001$) ve amitriptilin-oksotremorin-morfin ($p<0,05$) gruplarında diğer belirtiler daha fazla oldu. Kontrol-morfin grubu ile karşılaştırıldığında, amitriptilin-oksotremorin-morfin grubunda diğer belirtiler daha az oldu ($p<0,05$), amitriptilin-morfin ve oksotremorin-morfin gruplarında değişmedi. Kontrol-plasebo grubu ile karşılaştırıldığında, diğer plasebo gruplarında değişiklik ortaya çıkmadı.

Tablo 4-1: Farelerde morfine bağımlılık gelişmesine amitriptilinin ve oksotremorinin etkileri.

	Kontrol-Plasebo [6]	Amitriptilin- Plasebo [6]	Oksotremorin- Plasebo [6]	Amitriptilin- Oksotremorin- Plasebo [6]	Kontrol-Morfin [8]	Amitriptilin- Morfin [8]	Oksotremorin- Morfin [8]	Amitriptilin-Oksotremorin- Morfin [8]
Ağırlık kaybı	0,41±0,076	0,23± 0,075	0,28±0,067	0,36±0,084	0,96±0,11	1,2±0,17**	0,88±0,24	0,73±0,12
Sıçrama sayısı	0±0	0±0	1,2±0,83	0±0	30±5,5*	51±9,4***	59±12***	35±7,5*
Diğer belirtiler	0,3 ±0,21	0,83±0,17	0,17±0,17	0,33±0,33	8,1±1,1***	6,3±0,70***	7,3±1,2***	4,6±0,32*#

Üç gün günde 2 kez serum fizyolojik, 10 mg/kg amitriptilin, 0,1 mg/kg oksotremorin veya amitriptilin ile birlikte oksotremorin verilen (s.c.) farelere, plasebo veya morfin peleti konulmasından 72 saat sonra ek doz morfin uygulandı. İki saat sonra 1 mg/kg nalokson verildi ve hayvanlar 15 dakika izlendi. Yoksunluk belirtileri olarak ağırlık kaybı, sıçrama ve diğer belirtiler değerlendirildi.

[]: gruplardaki hayvan sayısı

*p<0,05, **p<0,01, ***p<0,001, kontrol-plasebo grubuna göre (Tukey testi)

#p<0,05, kontrol-morfin grubuna göre (Tukey testi)

5. TARTIŞMA

Bu çalışmada; antikolinerjik etkili amitriptilin, kolinerjik agonist oksotremorin ve amitriptilin ile birlikte oksotremorin verilen farelerde ağrı eşiği ölçüldü. Ardından plasebo veya morfin peleti konulan ve amitriptilin ve oksotremorin uygulamaları günde 2 kez olmak üzere 3 gün sürdürülen hayvanlarda antinosiseptif etkiye tolerans gelişmesi ve bağımlılık oluşması değerlendirildi. Bulgular, amitriptilinin ve oksotremorinin morfine tolerans ve bağımlılık gelişmesine etkilerine ilişkin veri ve görüşler kapsamında tartışıldı.

Ağrı eşiği, ısı uyarısına duyarlılığın incelenmesinde yaygın kullanılan kızgın levha ve kuyruk çekme testleri ile değerlendirildi. Bazı araştırmacılara göre kızgın levha testinde yanıtın ortaya çıkışında spinal ve supraspinal mekanizmalar (Le Bars 2001; Vicente-Rodriguez ve ark. 2013), bazı araştırmacılara göre ise daha çok supraspinal mekanizmalar rol oynamaktadır (Chapman ve ark. 1985; Ramabadran ve ark. 1989; König ve ark. 1996; Gardmark ve ark. 1998; Kubo ve ark. 2009). Omurilik kesisi yapılan sıçanlarda ayak çekme yanıtı ortaya çıkmadığından (Giglio ve ark. 2006), testte nosiseptif uyarıların sadece supraspinal yollar aracılığı ile iletildiği kabul edilmektedir (Deuis ve ark. 2017). Kuyruk daldırma testinin ise daha çok spinal düzenlemelere bağlı motor refleksleri içerdiği öne sürülmüştür (Chapman ve ark. 1985; Jensen ve Yaksh 1986; Ramabadran ve ark. 1989; Caggiula ve ark. 1995; Gardmark ve ark. 1998; Vicente-Rodriguez ve ark. 2013). Analjezik etkinin spinal ve supraspinal ayrımını yapmak için pek çok çalışmada iki test birlikte kullanılmaktadır (Le Bars 2001; Lilius ve ark. 2015; Rosa ve ark. 2015; Padgaonkar ve ark. 2018). Pelet konulmasından önce ve morfinin etkisinin zamana göre seyrinin değerlendirilmesinde ayak ve kuyruk çekme süreleri, ek doz morfin uygulamasında ise benzer çalışmalarda olduğu gibi uygulamadan önceki ve sonraki ayak ve kuyruk çekme süreleri değerleri ile hesaplanan %MPE kullanıldı (Tai ve ark. 2006; Sıkka ve ark. 2011; Ozdemir ve ark. 2012; Habibi-Asl ve ark. 2014; Lilius ve ark. 2015).

Bulgulara göre amitriptilin uygulandıktan 30 dakika sonra kızgın levha testine alınan farelerde ayak çekme süresi uzadı. Kuyruk daldırma testinde de kuyruk çekme süresinde analjezik etkiyi gösteren bir artış saptandı. Kızgın levha ve sıcak su veya radyan ısı ile kuyruk daldırma testlerini birlikte veya tek başına değerlendiren

araştırmacılara göre amitriptilin tek doz periton içi veya damar içi uygulandığı sıçan ve farelerde iki testte de analjezik etki göstermektedir (Dirksen ve ark. 1994; Galeotti ve ark. 2001; Paudel ve ark. 2007; Hall ve ark. 2011; Ozdemir ve ark. 2012; Ahmad ve ark. 2019). Buna karşın, amitriptilinin periton içi uygulandığı farelerde kuyruk çekme testinde daha zayıf analjezik etki gösterdiğini (Özdoğan ve ark. 2004) ve periton içi 3-30 mg/kg dozunda uygulandığı sıçanlarda iki testte de etkisiz olduğunu (Bomholt ve ark. 2005) bildiren araştırmacılar da bulunmaktadır. Beş gün infüzyon ile intratekal olarak amitriptilin uygulanan sıçanlarda ise kuyruk daldırma testinde antinosiseptif etki ortaya çıkmamıştır (Tai ve ark. 2006). Bulgular, iki testte de amitriptiline yanıt alındığını gösteren çalışmalara destek sağlamıştır. Kızgın levha testinde yanıtın supraspinal mekanizmalara, kuyruk daldırma testinde ise spinal mekanizmalara bağlı olabileceği görüşleri, amitriptilinin analjezik etkisinin iki düzeyde de yer alabildiğini işaret etmektedir. Bu sonuç, antidepresanların analjezik etkilerini esas olarak supraspinal düzeyde gösterdiklerini öne süren araştırmacıların görüşleri ile bir zıtlık oluşturmamaktadır (Korzeniewska-Rybicka ve Plaźnik 2000).

Oksotremorin uygulandıktan 30 dakika sonra kızgın levha testine alınan farelerde ayak çekme süresinde bir değişiklik olmadı, kuyruk daldırma testinde ise kuyruk çekme süresi uzadı. Deri altı veya periton içi uygulama ile 0,1 mg/kg veya daha düşük dozda oksotremorin verilen farelerde (Pleuvry ve Tobias 1971; Bartolini ve ark. 1987; Malcangio ve ark. 1991; Gomeza ve ark. 1999; Wess ve ark. 2003) ve sıçanlarda (Machelska ve ark. 1999; Abelson ve Höglund 2002b; Dulu ve ark. 2014) kuyruk daldırma ve kızgın levha testlerinin tek başına veya birlikte kullanımlarında analjezik etki elde edilmiştir. Oksotremorinin intratekal olarak verildiği sıçan ve farelerde de kuyruk çekme testinde analjezik etki saptanmıştır (Machelska ve ark. 1999; Wess ve ark. 2003). Bulgular, sözü edilen çalışmaların kızgın levha verilerini desteklememektedir. Bu durum, kızgın levha testinin kuyruk çekme testine göre oksotremorine daha az duyarlılık göstermesine bağlı olabilir (Duttaroy ve ark. 2002). Ayrıca ayak çekme yanıtında fareler arasında bireysel farkın çok fazla saptanmış olması ile de ilişki gösterebilir. Oksotremorinin hem spinal hem de supraspinal analjezik etkisinin olduğundan söz eden araştırmacılar bulunmaktadır (Duttaroy ve ark. 2002). Muskarinik reseptörlerin ağrı aşırımı ile yakından ilişkili omurilik arka boynuzunda (Höglund ve Baghdoyan 1997) ve talamusta (Levey 1993) aşırı eksprese edilmeleri bu iddiaları destekler niteliktedir. Ancak, muskarinik reseptörlerin spinal antinosiseptif

etkideki rolleri (Abelson ve Höglund 2002a) ile uyumlu kuyruk çekme verileri, oksotremorinin spinal düzeyde analjezi oluşturduğuna düşündürmektedir.

Amitriptilin ile birlikte oksotremorin verilen ve 30 dakika sonra kızgın levha testine alınan farelerde ayak çekme süresinde bir değişiklik olmazken, kuyruk daldırma testinde analjezik etki ortaya çıktı. Amitriptilin serotonerjik ve noradrenerjik sinir uçlarında geri alınımı güçlü bir biçimde baskılar (Katzung 2018). Bu nedenle, amitriptilinin analjezik etkisinde serotonerjik/noradrenerjik yollardaki etkinliğin tek başına veya birlikte artışının rolü olduğu öne sürülmektedir (Botney ve Fields 1983; Tura ve Tura 1990; Ghelardini ve ark. 2000). Alfa-2 adrenoreseptörlerin amitriptilinin analjezik etkisine aracılık ettiği gösterilmiştir (Ghelardini ve ark. 2000). Ayrıca, sodyum kanallarının kapatılmasının (Gerner ve ark. 2001) ve endojen opioiderjik sistemin etkinliğinin güçlendirilmesinin (Sacerdote ve ark. 1987; Sawynok ve ark. 2001) de trisiklik antidepresanların analjezik etkilerinde rolleri olduğu iddia edilmiştir. Oksotremorinin analjezik etkisinin oluşmasında ise spinal ve supraspinal düzeyde muskarinik M₂ reseptörlerinin anahtar rol oynadıkları (Gomez ve ark. 1999) ve M₄ reseptörlerinin bu eyleme katkıda bulundukları (Duttaroy ve ark. 2002) bildirilmiş, omurilik düzeyinde etkinin asetilkolin salıverilmesine bağlı olduğu öne sürülmüştür (Abelson ve Höglund 2002b). Amitriptilinin güçlü antikolinerjik etkisi olduğundan (McKearney 1982) oksotremorinin analjezik etkisini azaltabileceği veya ortadan kaldıracabileceği öngörülmüştü. Bu öngörü kuyruk çekme yanıtında doğrulanamadı. Alfa-2 adrenerjik (Abelson ve Höglund 2004) ve serotonerjik (Kommallage ve Höglund 2005) reseptörlerin uyarılmasının, omurilikte asetilkolin salıverilmesi aracılığı ile analjezik etkiye yol açtığı gösterilmiştir. Oksotremorin ve amitriptilin birlikteliğinde aditif (eklenmiş) veya potansiyalizasyon (güçlenmiş) şeklinde bir antinosiseptif yanıt ortaya çıkmadı. Oksotremorin grubunda maksimum yanıt elde edildiği için kesme süresi etkileşmenin saptanabilmesini sınırlamış olabilir. Kızgın levha testinde oksotremorin ve amitriptilin birlikteliğinde analjezik etkinin ortaya çıkmaması, oksotremorinin amitriptilinin etkisini azalttığını göstermektedir. Amitriptilinin analjezik etkisinde antikolinerjik özelliğinin katkısından söz edilmediğinden, kolinerjik oksotremorin ile oluşan antagonizma çelişkili bir durum oluşturdu. Oksotremorinin noradrenalinin sentez ve salıverilmesini azaltmasının (Birch ve Fillenz 1986) veya antinosiseptif etkisini oluştururken nitrik oksit ile etkileşmesinin (Machelska ve ark. 1999) bu bulguya katkısı yorumlanamamıştır.

Serum fizyolojik, amitriptilin veya oksotremorin uygulandıktan sonra plasebo veya morfin peleti konulan farelerde morfinin ağrı eşiğine etkisinin zamana göre seyrinin değerlendirilmesi, kontrol-morfin grubunda antinosiseptif etkinin kızgın levha testinde 4 ve kuyruk daldırma testinde 4 ve 48 saat sonra belirgin olduğunu gösterdi. Antinosiseptif etki kızgın levha testinde 4 saat sonraki ölçümlere göre 48 ve 72 saat sonra azaldı, 72 saat sonra iki testte de ortadan kalktı. Bu bulgular ile morfin peleti konulmuş sıçanlarda analjezik etkinin kızgın levha testinde 48 saat sonra kaybolduğunu, kuyruk daldırma testinde ise varlığını sürdürdüğünü gösteren Özdemir (2018)'in çalışması desteklendi. Ayak çekme ve kuyruk çekme yanıtlarının 72 saat sonra ortadan kalktığını gösteren diğer çalışmalar ile de uyum sağlandı (Smith ve ark. 2006; Morgan ve ark. 2009). Analjezik etkideki azalma veya ortadan kalkma tolerans gelişiminin (Yuill ve ark. 2016) veya peletlerden morfin salıverilmesinin azalması ile kan düzeyindeki düşmenin sonucu olabilir. İki adet 75 mg morfin içeren pelet yerleştirilen sıçanlarda, 4-6 saat sonra plazma doruk morfin konsantrasyonuna erişildiği, kuyruk daldırma testinde antinosiseptif etkinin aynı zaman diliminde doruğa ulaştığı, 36-72 saatleri arasında plazma düzeyinin kararlı durumu sürdürdüğü ve antinosiseptif etkinin 36. saatte başlangıç değerlerine düştüğü gösterilmiştir (Yoburn ve ark. 1985). Bir başka çalışmada da aynı miktarda morfin peleti konulan sıçanlarda kuyruk çekme yanıtı 48 saat sonra kontrol değerlerine inmiştir (Hepburn ve ark. 1997). Kang ve ark. (2017) ise 75 mg morfin içeren tek pelet yerleştirdikleri farelerde, kuyruk çekme yanıtının 48 saat sonra azalmış olmasına karşın plasebo grubuna göre hala yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Bu araştırmalar, kızgın levha testinde analjezik etkinin zamana bağlı azalmasının tolerans gelişimi ile ilişkili olduğuna kanıt oluşturmaktadır. Piersey ve Schroeder (1981) ayak çekme ve kuyruk çekme yanıtlarının farelerde morfine eşit duyarlılıkta olduğunu göstermişlerdir. Gardmark ve ark. (1998)'na göre ise kuyruk çekme yanıtı, ayak çekme yanıtına göre morfine daha duyarlıdır. Bu görüş, kuyruk daldırma testinde 48 saat sonra analjezinin varlığına bir açıklama getirmektedir. İki testin bulguları birlikte değerlendirildiğinde, morfinin spinal analjezik etkisine supraspinal etkisine göre daha geç tolerans geliştiği ileri sürülebilir.

Morfinin antinosiseptif etkisinin zamana göre seyrinin değerlendirildiği amitriptilin-morfin, oksotremorin-morfin ve amitriptilin-okstremorin-morfin gruplarında kızgın levha ve kuyruk daldırma testlerinde 4 saat sonra antinosiseptif etki ortaya çıktı. Bu etki, iki testte de kontrol-morfin grubuna göre fark göstermedi.

Amitriptilin ve oksotremorin morfinin etkisinde bir değişikliğe yol açmadı. İntratekal olarak verilen amitriptilinin sıçanlarda kuyruk daldırma testinde (Liu ve Wang 1981; Botney ve Fields 1983) ve oksotremorinin farelerde kızgın levha testinde morfinin etkisini (Pleuvry ve Tobias 1971) güçlendirdiği ve kolinerjik fizostigmin ile morfin arasında sinerjik etkileşme (Aslan ve ark. 1995) ve opiatların spinal düzeydeki analjezik etkilerinde kolinerjik mekanizmaların katkısının (Dirksen ve Nijhuis 1983) olduğu bildirilmiştir. Bulgular bu çalışmaları desteklememektedir. Kontrol-plasebo grubundan farklı olarak, amitriptilin-morfin grubunda kızgın levha testinde 48 saat sonra analjezi ortaya çıktı. Bu bulgu, amitriptilinin morfinin etkisinde zamana bağlı azalmayı önlediğini böylece etkisini güçlendirdiği göstermektedir. Oksotremorin-morfin grubunda ise kuyruk daldırma testinde 48 saat sonra analjezik etki kayboldu; oksotremorin varlığında morfin etkisinde zamana bağlı azalma belirginleşti. Amitriptilin-oksotremorin-morfin grubunda ise iki testte de kontrol-morfin grubuna göre analjezik etkide bir fark ortaya çıkmadı. Bir diğer deyişle amitriptilin ve oksotremorin arasında morfinin etkisini değiştirecek bir etkileşme olmadı. İlgi çekici olarak kontrol-plasebo grubunda kızgın levha testinde 72 saat sonra ayak çekme süresi azaldı. Bazı çalışmalarda kısa zaman dilimi içinde tekrarlayan ağrı eşiği ölçümlerinde öğrenmeye bağlı erken yanıt oluşumu olasılığı tartışıldığından (King ve ark. 1997; Gunn ve ark. 2011), bu durum öğrenmeye bağlı olabilir. Öte yandan, amitriptilin-plasebo ve oksotremorin-plasebo gruplarında 4, 48 ve 72 saat sonraki ve amitriptilin-oksotremorin-plasebo grubunda 48 ve 72 saat sonraki ölçümlerde analjezik etki ortaya çıkmadı. Tekrarlayan oksotremorin uygulamasında analjezik etkiye ilişkin bir veriye rastlanılamadı. Amitriptilinin 3 mg/kg dozunda günde 1 kez 7 gün uygulandığında analjezi sağladığını gösteren çalışma göz önüne alındığında (Amin ve ark. 2017), amitriptilin-oksotremorin-plasebo grubunda 48 ve 72 saat sonra analjezinin saptanamamış olması yorumlanamadı.

Morfinin antinosiseptif etkisinin zamana göre seyrinin değerlendirilmesinden sonra ek doz morfin verilerek ağrı eşiğinin ölçülmesi, kontrol-plasebo grubuna göre morfin grubunda ayak çekme süresinin daha kısa olduğunu, kuyruk çekme süresinin değişmediğini gösterdi. Pelet uygulamasından 3 gün sonra artan dozda sistemik morfin verildiğinde kızgın levha (Romero ve ark. 2010) ve kuyruk daldırma (Mischel ve ark. 2018) testlerinde veya periakvaduktal gri maddeye yerel olarak deltorfin injeksiyonu yapıldığında iki testte de (Morgan ve ark. 2009) tolerans geliştiği gösterildiğinden, ayak

çekme yanıtında ortaya çıkan tolerans literatüre uyum sağladı. Kuyruk çekme yanıtında toleransın ortaya çıkmaması ise bu çalışmalarınve diğer morfin çalışmalarının (Dighe ve ark. 2009; Kang ve ark. 2017) bulgularından farklı olsa da morfinin antinosiseptif etkisine 72 saat sonra toleransın daha çok supraspinal düzeyde geliştiğini işaret etmektedir. Morfine tolerans gelişen hayvanlarda ek doz morfin verildiğinde ağrı eşiğinde artış plasebo grubuna göre anlamlı olarak daha az olur. İlgi çekici olarak, morfin gruplarındaki tüm hayvanların 72 saat sonraki ağrı eşiği değerleri ek doz morfinden sonra artmadı, tam aksine azaldı. Bireysel farkın fazla, denek sayısının az olması nedeni ile istatistiksel olarak anlamlılık gösterilemedi. Kızgın levha ve kuyruk daldırma testlerinde morfine tolerans gelişimine hiperaljezi oluşumunun eşlik ettiği bildirildiğinden (Mao ve ark. 1994), morfin grubundaki bu azalmış yanıt bir hiperaljezi göstergesi olabilir.

Ek doz morfin verilen oksotremorin-morfin ve amitriptilin-okstotremorin-morfin gruplarında ayak ve kuyruk çekme süreleri kontrol-plasebo grubuna göre daha kısa oldu. Amitriptilin-morfin grubunda kızgın levha testinde yanıt kontrol-plasebo grubundan farksız oldu. Amitriptilinin morfine tolerans gelişimini engellediği şeklinde yorumlanabilecek bu bulgu literatür ile uyumlu oldu. Amitriptilinin 4 gün morfin ile birlikte verildiği farelerde, ek doz morfin sonrası kızgın levha testinde antinosiseptif yanıt tolerans gelişiminin azaldığı (Tai ve ark. 2006; Habibi-Asl ve ark. 2014), tek doz amitriptilinin morfine tolerans gelişmiş sıçanlarda kızgın levha ve radyan ısı kuyruk çekme testlerinde ek doz morfine yanıtı güçlendirdiği (Ozdemir ve ark. 2012) bildirilmiştir. Oksotremorin-morfin ve oksotremorin-amitriptilin-morfin gruplarında iki testte de ek doz morfine yanıtın düşük olması, kızgın levha testinde kontrol-morfin grubu ile benzerlik gösterirken, kuyruk daldırma testinde toleransı işaret etti. Morfin ile birlikte verilen muskarinik reseptör antagonistleri tolerans gelişimini hafiflettiklerinden (Yang ve ark. 1997), oksotremorin kuyruk çekme yanıtında tolerans gelişimini teşvik etmiş görünmektedir.

Ek doz morfine yanıtın değerlendirilmesinden sonra nalokson verilmesi yoksunluk tablosuna yol açtı. Pelet veya enjeksiyon, ozmotik pompa gibi farklı uygulama biçimleri ile kronik morfin uygulanmış farelere 1 mg/kg veya daha yüksek dozlarda nalokson uygulanmasının, ağırlık kaybı (Vela ve ark. 1995; Suzuki ve ark.1995; McLane ve ark. 2017), sıçrama (Vela ve ark. 1995; Taiwo ve ark. 2004),

işeme (McLane ve ark. 2017), dışkılama (Nicoara ve ark. 2016; McLane ve ark. 2017), ön pençe tremoru, ıslak köpek silkelmesi, şahlanma (Maldonado ve ark. 1991; Nicoara ve ark. 2016) ve lokomotor aktivite (Brady ve Holtzman 1981) artışı gibi belirtilere yol açtığı pek çok araştırmacı tarafından gösterilmiştir. Sadece sıçrama (Wu ve ark. 2012) veya ağırlık kaybı (Garcia-Carmona ve ark. 2015) ile yoksunluğu değerlendiren araştırmacılar da bulunmaktadır. Kontrol-morfin grubunda yoksunluk belirtileri, sıçrama ve diğer belirtiler oldu. Pelet uygulanmış farelerde 72 saat sonra nalokson ile oluşturulan yoksunlukta bu belirtilere ağırlık kaybı eşlik etmiştir (Vela ve ark. 1995; Taiwo ve ark. 2004; McLane ve ark. 2017). Morfin yoksunluğunda belirtilerin şiddetinin morfin ve nalokson dozları ile orantılı olarak arttığı bilinmektedir (Espejo ve ark. 1995). Ağırlık kaybının ortaya çıkmaması düşük dozda nalokson kullanılmış olmasına bağlı olabilir, ancak 1 mg/kg nalokson ile oluşan yoksunluk tablosunda ağırlık kaybı gösterilmiştir (Vela ve ark. 1995). Bu durum deney koşullarının farklı olması ile açıklanabilir. Amitriptilin-morfin grubunda ağırlık kaybı, sıçrama sayısı ve diğer belirtiler, oksotremorin-morfin ve amitriptilin-oksotremorin-morfin gruplarında sıçrama sayısı ve diğer belirtiler yoksunluk tablosunu oluşturdu. Oksotremorin-morfin grubunda yoksunluk belirtileri kontrol-morfin grubundan fark göstermedi. Oksotremorinin morfin bağımlılığı gelişimini etkilememesi, nalokson ile oluşturulan yoksunlukta sıçramayı baskılaması (Brase ve ark. 1974) ve kesilmeye bağlı yoksunlukta diğer belirtileri etkilememekle birlikte ağırlık kaybındaki azalmayı hafifletmesi (Widman ve ark. 1985) bulgularını desteklemedi. Amitriptilin-morfin grubunda ağırlık kaybı, amitriptilinin morfine bağımlılık gelişmesini güçlendirdiğine ilişkin bir veri oluşturdu. Bazı araştırmacılara göre amitriptilin aksi yönde etki yapmaktadır (Liu ve ark. 2013; Habibi-Asl ve ark. 2014). Bir diğer trisiklik antidepressan olan imipraminin morfin ile birlikte verildiğinde sıçramayı artırması, bağımlılık gelişmesini güçlendirdiğinin delili olmuştur (Zarrindast ve ark. 2003). Amitriptilin ile elde edilen bulgular imipramin bulguları ile uyumludur. Amitriptilin ile birlikte oksotremorin verilen hayvanlarda ise kontrol-morfin grubuna göre diğer belirtiler daha az oldu. Morfin verilmesi sırasında kolinerjik etkinliğin artırılması yoksunluk belirtilerinin azalmasına yol açtığından (Frederickson ve Pinsky 1975), oksotremorin amitriptilinin bağımlılık gelişimini güçlendirici etkisini kolinerjik etkinliği ile kısmen baskılamış olabilir.

5.1. Çalışmanın Kısıtlılıkları

Bazı gruplarda bireysel farkın fazla olması ve denek sayısının az olması bulguların istatistiksel değerlendirmelerinde anlamlı sonuç almayı etkiledi.

5.2. Sonuç

Amitriptilinin kızgın levha ve kuyruk daldırma testlerinde ve oksotremorinin kuyruk daldırma testinde ayak veya kuyruk çekme sürelerini uzatmaları analjezik etkilerinin gösterildiği çalışmalara destek sağladı. Bu etkilerin, amitriptilinde supraspinal ve spinal ve oksotremorinde spinal mekanizmalara bağlı olabileceği öne sürülebilir. Amitriptilinin antinosiseptif etkisinin oksotremorin ile önlenmesi ve aditif analjezik etkinin ortaya çıkmaması aralarında olasılıkla kolinerjik sistem aracılı bir etkileşim olabileceğini düşündürdü. Buna karşın amitriptilin güçlü antikolinerjik etkisi ile oksotremorinin antinosiseptif etkisini önleyemedi. Morfinin analjezik etkisinde pelet konulmasından 48 ve 72 saat sonra zamana bağlı azalmayı ve ek doz morfin ile ortaya çıkan toleransı amitriptilin iki testte de önledi. Oksotremorin ise kuyruk daldırma testinde morfinin 48 saat sonra analjezik etkisini ortadan kaldırdı, 72 saat sonra morfine tolerans gelişmesini tek başına veya amitriptilin ile birlikte verildiğinde belirgin hale getirdi. Nalokson ile oluşan yoksunluk belirtilerini amitriptilin kısmen artırdı, oksotremorinin ve amitriptilinin birlikte verilmesi azalttı. Amitriptilinin morfine tolerans gelişimini önlemesi ancak bağımlılık gelişimini güçlendirmesi, morfin toleransı ve bağımlılığının farklı mekanizmalar ile oluştuğu görüşüne uygun olabilir. Oksotremorinin morfine tolerans gelişimini güçlendirmesi ise benzer çalışmalara uyum göstermektedir. Tüm bu bulgular, amitriptilinin aracılık ettiği noradrenerjik ve serotonerjik ve oksotremorinin aracılık ettiği kolinerjik mekanizmaların analjezi, morfin bağımlılığı ve toleransı oluşumundaki rollerine ilişkin verilere katkı sağlar nitelikte görünmektedir. Morfin gruplarındaki hayvanlarda 72 saat sonra ağrı eşiği değerlerinin ek doz morfiden sonra azalma eğilimi göstermesinin tolerans ve hiperaljezi gelişimi ile ilişkisi ise ayrıntılı olarak araştırılmalıdır.

KAYNAKLAR

- Abe, K., Ishida, K., Kato, M. Shigenaga, T., Taguchi, K. ve Miatake, T. (2002). Effect of morphine-induced antinociception is altered by AF64A-induced lesions on cholinergic neurons in rat nucleus raphe magnus. *Acta Pharmacologica Sinica*, **23**, 961-966.
- Abdel-Zaher, A.O., Mostafa, M.G., Farghaly, H.S.M., Hamdy, M.M. ve Abdel-Hady, R.H. (2013). Role of oxidative stress and inducible nitric oxide synthase in morphine-induced tolerance and dependence in mice: effect of alpha-lipoic acid. *Behavioral Brain Research*, **247**, 17-26.
- Abelson, K.S. ve Höglund, A.U. (2002a). Intravenously administered lidocaine in therapeutic doses increases the intraspinal release of acetylcholine in rats. *Neuroscience Letters*, **317**, 93-96.
- Abelson, K.S. ve Höglund, A.U. (2002b). Intravenously administered oxotremorine and atropine, in doses known to affect pain threshold, affect the intraspinal release of acetylcholine in rats. *Pharmacology & Toxicology*, **90**, 187-192.
- Abelson, K.S ve Höglund, A.U. (2004). The effects of the alpha2-adrenergic receptor agonists clonidine and rilmenidine, and antagonists yohimbine and efaroxane, on the spinal cholinergic receptor system in rat. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology*, **94**, 153-160.
- Ables, J.L., Görlich, A., Antolin-Fontes, B., Wang, C., Lipford, S.M., Riad, M.H. ve ark. (2017). Retrograde inhibition by a specific subset of interpeduncular $\alpha 5$ nicotinic neurons regulates nicotine preference. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **114**, 13012-13017.
- Acquas, E. ve Di Chiara, G. (1992). Depression of mesolimbic dopamine transmission and sensitization to morphine during opiate abstinence. *Journal of Neurochemistry*, **52**, 1620-1625.
- Afify, E.A., Law, P.Y., Riedl, M., Elde, R. ve Loh, H.H. (1998). Role of carboxyl terminus of mu-and delta-opioid receptor in agonist-induced down-regulation. *Brain Research. Molecular Brain Research*, **54**, 24-34.

- Ahmad, I, Hasan, M.N. ve Mishra, K.A. (2019). Evaluation of central and peripheral analgesic activity of amitriptyline in mice. *International Journal of Basic & Clinical Pharmacology*, **8**, 1622-1627.
- Allchorne, A.J., Broom, D.C. ve Woolf, C.J. (2005). Detection of cold pain, cold allodynia and cold hyperalgesia in freely behaving rats. *Molecular Pain*, **14**, 1-36.
- Allouche, S., Noble, F. ve Marie, N. (2014). Opioid receptor desensitization mechanisms and its link to tolerance. *Frontiers in Pharmacology*, **5**, 280.
- Amin, B., Hosseini, S. ve Hosseinzadeh, H. (2017). Enhancement of antinociceptive effect by co-administration of amitriptyline and Crocus Sativus in a rat model of neuropathic pain. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, **16**, 187-200.
- Ankier, S.I. (1974). The new plate tests to quantify antinociceptive and narcotic antagonist activities. *European Journal of Pharmacology*, **27**, 1-4.
- Aslan, A.N., Berkman, K., Çirakoğlu, B. ve Oktay, Ş. (1995). Antinociceptive effects of morphine and physostigmine in different inbred strains of mice. *Marmara Medical Journal*, **9**, 7-10.
- Aston-Jones, G. ve Kalivas, P.W. (2008). Brain norepinephrine rediscovered in addiction research. *Biological Psychiatry*, **63**, 1005-1006.
- Bailey, C.P. ve Connor, M. (2005). Opioids: cellular mechanisms of tolerance and physical dependence. *Current Opinion in Pharmacology*, **5**, 60-68.
- Baratti, C.M., Introini, I.B., Huygens, H. ve Gusovsky, F. (1983). Possible cholinergic-dopaminergic link in memory facilitation induced by oxotremorine in mice. *Psychopharmacology*, **80**, 161-165.
- Bartolini, A., Di Cesare Mannelli, L. ve Ghelardini, C. (2011). Analgesic and antineuropathic drugs acting through central cholinergic mechanisms. *Recent Patents on CNS Drug Discovery*, **6**, 119-140.
- Berge, O.G., Garcia-Cabrera, I. ve Hole, K. (1988). Response latencies in the tail flick test depend on tail skin temperature. *Neuroscience Letters*, **86**, 284-288.
- Bernstein, M.A. ve Welch, S.P. (1998). μ -Opioid receptor down-regulation and cAMP-dependent protein kinase phosphorylation in a mouse model of chronic morphine tolerance. *Brain Research. Molecular Brain Research*, **55**, 235-242.

- Bhargava, H.N. ve Way, E.L. (1976). Morphine tolerance and physical dependence: influence of cholinergic agonists and antagonists. *European Journal of Pharmacology*, **36**, 79-88.
- Bhargava, H.N. (1978). Quantification of morphine tolerance induced by pellet implantation in rats. *The Journal of Pharmacy and Pharmacology*, **30**, 133-135.
- Birch, P.J. ve Fillenz, M. (1986). Muscarinic receptor activation inhibits both release and synthesis of noradrenaline in rat hippocampal synaptosomes. *Neurochemistry International*, **8**, 171-177.
- Borges, L.F. ve Iversen, S.D. (1986). Topography of choline acetyltransferase immunoreactive neurons and fibers in the rat spinal cord. *Brain Research*, **362**, 140-148.
- Bohn, L.M., Gainetdinov, R.R., Lin, F.T., Lefkowitz, R.J. ve Caron, M.G. (2000). Mu-opioid receptor desensitization by beta-arrestin-2 determines morphine tolerance but not dependence. *Nature*, **408**, 720-723.
- Bomholt, S.F., Mikkelsen, J.D., Blackburn-Munro, G. (2005). Antinociceptive effects of antidepressants amitriptyline, duloxetine, mirtazapine and citalopram in models of acute, persistent and neuropathic pain. *Neuropharmacology*, **48**, 252-263.
- Botney, M. ve Fields H.L. (1983). Amitriptyline potentiates morphine analgesia by a direct action on the central nervous system. *Annals of Neurology*, **13**, 160-164.
- Brady, L.S. ve Holtzman, S.G. (1981). Locomotor activity in morphine-dependent and post-dependent mice. *Pharmacology, Biochemistry and Behaviour*, **14**, 361-370.
- Brady, L.S. ve Holtzman, S.G. (1982). Analgesic effects of intraventricular morphine and enkephalins in nondependent and morphine-dependent rats. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, **222**, 190-197.
- Brain, M.C., Christie, M.J., Devi, L., Toll, L. ve Traynor, J.R. (2015). Challenges for opioid receptor nomenclature: IUPHAR Review 9. *British Journal of Pharmacology*, **172**, 317-323.
- Brase, D.A, Tiseng, L.F., Loh, H.H. ve Way, E.L. (1974). Cholinergic modification of naloxone-induced jumping in morphine dependent mice. *European Journal of Pharmacology*, **26**, 1-8.

- Britton, K.T., Svensson, T., Schwartz, J., Bloom, F.E. ve Koob, G.F. (1984). Dorsal noradrenergic bundle lesions fail to alter after opiate withdrawal or suppression of opiate withdrawal by clonidine. *Life Sciences*, **34**, 133-139.
- Broseta, I., Rodriguez-Arias, M., Stinus, Z. ve Minarro, J. (2002). Ethological analysis of morphine withdrawal with different dependence programs in male mice. *Progress in Neuro-psychopharmacology & Biological Psychiatry*, **26**, 335-347.
- Buccafusco, J.J., Zhang, L.C., Shuster, L.C., Johnnala, R.R, Gattu, M. (2000). Prevention of precipitated withdrawal symptoms by activating central cholinergic systems during a dependence-producing schedule of morphine in rats. *Brain Research*, **852**, 76-83.
- Büyükşekerci, M. ve Gültekin, H. (2005). Low doses of prazosin potentiates the antinociceptive /analgesic effect of amiytriptiline. *Ağrı*, **17**, 54-56.
- Caggiula, A.R., Epstein, L.H., Perkins, K.A. ve Saylor, S. (1995). Different methods for assessing nicotine-induced antinociception may engage different neural mechanism. *Psychopharmacology (Berl)*, **122**, 301-306.
- Carlton, S.M., Lekan, H.A., Kim, S.H. ve Chung, J.M. (1994). Behavioral manifestations of an experimental model for peripheral neuropathy produced by spinal nerve ligation in the primate. *Pain*, **56**, 155-166.
- Chaplan, S.R., Bach, F.W., Pogrel, J.W., Chung, J.M. ve Yaksh, T.L. (1994). Quantitative assessment of tactile allodynia in the rat paw. *Journal of Neuroscience Methods*, **53**, 55-63.
- Chapman, C.R., Casey, K.L., Dubner, R., Foley, K.M., Gracely, R.H. ve Reading, A.E. (1985). Pain measurement: an overview. *Pain*, **22**, 1-31.
- Chartoff, E.H. ve Connery, H.S. (2014). It's MORE exciting than mu: crosstalk between mu opioid receptor and glutamatergic transmission in the mesolimbic dopamine system. *Frontiers in Pharmacology*, **5**, 116.
- Christie, M.J. ve Overstreet, D.H. (1979). Sensitivity of morphine-tolerant rats to muscarinic and dopaminergic agonists: relation to tolerance or withdrawal. *Psychopharmacology (Berl)*, **65**, 27-34.

- Collett, B.J. (1998). Opioid tolerance: the clinical perspective. *British Journal of Anaesthesia*, **81**, 58-68.
- Connor, M. ve Christie, M.J. (1999). Opioid receptor signalling mechanisms. *Clinical and Experimental Pharmacology & Physiology*, **26**, 493-499.
- Cooper, S., Robison, A.J. ve Mazei-Robison, M.S. (2017). Reward circuitry in addiction. *Neurotherapeutics*, **14**, 687-697.
- Costantino, C.M., Gomes, I., Stockton, S.D., Lim, M.P., Devi, L.A. (2012). Opioid receptor heteromers in analgesia. *Expert Reviews in Molecular Medicine*, **14**:e9.
- Cox, B.M., Christie, M.J., Devi, L., Toll, L., Traynor, J.R. (2015). Challenges for opioid receptor nomenclature: IUPHAR Review 9. *British Journal of Pharmacology*, **172**, 317-323.
- Crocker, A.D. ve Russell, R.W. (1984). The up-and-down method for the determination of nociceptive thresholds in rats. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, **21**, 133-136.
- D'Amour, W.L. ve Smith, D.L. (1941). A method for determining the loss of pain sensation. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, **72**, 74-79.
- Davis, C.N., Bradley, S.R., Schiffer, H.H., Friberg, M., Koch, K., Tolf, B.R ve ark. (2009). Differential regulation of muscarinic M1 receptors by orthosteric and allosteric ligands. *BMC Pharmacology*, **9**, 14.
- Deius, J.R. ve Vetter, I. (2016). The thermal probe test: a novel behavioral assay to quantify thermal paw withdrawal thresholds in mice. *Temperature*, **3**, 199-207.
- Deius, J.R., Dvorakova, L.S. ve Vetter, I. (2017). Methods used to evaluate pain behaviors in rodents. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, **10**, 284.
- Delfs, J.M., Zhu, Y., Druhan, J.P. ve Aston-Jones, G. (2000). Noradrenaline in the ventral forebrain is critical for opiate withdrawal-induced aversion. *Nature*, **403**, 430-434.
- Dighe, S.V., Madia, P.A., Sirohi, S. ve Yoburn, B.C. (2009). Continuous morphine produces more tolerance than intermittent or acute treatment. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, **92**, 537-542.

- Dirksen, R. ve Nijhuis, G.M. (1983). The relevance of cholinergic transmission at the spinal level to opiate effectiveness. *European Journal of Pharmacology*, **91**, 215-221.
- Dirksen, R., Van Diejen, D., Von Luijtelaar, E.L. ve Booij, B.H. (1994). Site and test dependent antinociceptive efficacy of amitriptyline in rats. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, **47**, 21-26.
- Dulu, T.D., Kanui, T.I., Towett, P.K, Maloiy, G.M. ve Abelson, K.S.P. (2014). The effects of oxotremorine, epibatidine, atropine, mecamlamine and naloxone in the tail-flick, hot-plate and formalin tests in the naked mole-rat (*Heterocephalus glaber*). *In Vivo*, **28**, 39-48.
- Duttaroy, A. ve Yoburn, B.C. (1995). The effect of intrinsic efficacy on opioid tolerance. *Anesthesiology*, **82**, 1226-1236.
- Duttaroy, A., Gomeza, J., Gan, J.W., Siddiqui, N., Basile, A.S., Harman, W.D. ve ark. (2002). Evaluation of muscarinic agonist-induced analgesia in muscarinic acetylcholine receptor knockout mice. *Molecular Pharmacology*, **62**, 1084-1093.
- Eddy, N.B., Halbach, H., Isbel, H. ve Seevers, M.H. (1965). Drug dependence: its significance and characteristics. *Bulletin of the World Health Organization*, **32**, 721-733.
- Enjin, A., Leão, K.E., Mikulovic, S., Le Merre, P., Tourtellotte, W.G. ve Kullander, K. (2012). Sensorimotor function is modulated by the serotonin receptor 1d, a novel marker for gamma motor neurons. *Molecular and Cellular Neurosciences*, **49**, 322-332.
- Espejo, E.F. ve Mir, D. (1993). Structure of the rat's behaviour in the hot plate test. *Behavioural Brain Research*, **56**, 171-176.
- Espejo, E.F., Cador, M. ve Stinus, L. (1995). Ethopharmacological analysis of naloxone-precipitated morphine withdrawal syndrome in rats: a newly-developed "ethno-score". *Psychopharmacology (Berl)*, **122**, 122-130.
- Felice, M.D. ve Ossipov, M.H. (2016). Cortical and subcortical modulation of pain. *Pain Management*, **6**, 111-120.

- Fields, H.L. ve Margolis, E.B. (2015). Understanding opioid reward. *Trends in Neurosciences*, **38**, 217-225.
- Fillingim, R.B., Loeser, J.D., Baron, R. ve Edwards, R.R. (2016). Assessment of chronic pain: domains, methods and mechanisms. *Journal of Pain*, **17**, 10-20.
- Finn, A.K. ve Whistler, J.L. (2001). Endocytosis of the mu opioid receptor reduces tolerance and a cellular hallmark of opiate withdrawal. *Neuron*, **32**, 829-839.
- Fitting, S., Stevens, D.L., Khan, F.A., Scoggins, K.L., Enga, R.M., Beardsley, P.M. ve ark. (2016). Morphine tolerance and physical dependence are altered in conditional HIV-1 tat transgenic mice. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, **356**, 96-105.
- Frederickson, R.C. ve Pinsky, C. (1975). Effects of cholinergic and anticholinergic drugs and a partial cholinergic agonist on the development and expression of physical dependence on morphine in rat. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, **193**, 44-45.
- Frenois, F., Cador, M., Caille, S., Stinus, L. ve Le Moine, C. (2002). Neural correlates of the motivational and somatic components of naloxone-precipitated morphine withdrawal. *The European Journal of Neuroscience*, **16**, 1377-1389.
- Fürst, S. (1999). Transmitters involved in antinociception in the spinal cord. *Brain Research Bulletin*, **2**, 129-141.
- Gades, N.M., Danneman, P.J., Wixson, S.K. ve Tolley, E.A. (2000). The magnitude and duration of the analgesic effect of morphine, butorphanol and buprenorphine in rats and mice. *Contemporary Topics in Laboratory Animal Science*, **39**, 8-13.
- Galeotti, N., Ghelardini, C. ve Bartolini, A. (2001). Involvement of potassium channels in amitriptyline and clomipramine analgesia. *Neuropharmacology*, **40**, 75-84.
- Galeotti, N., Bartolini, A.V. ve Gherlardini, C. (2005). Ryanodine receptors are involved in muscarinic antinociception in mice. *Behavioral Brain Research*, **164**, 165-171.
- Garcia-Carmona, J.A., Camejo, D.M., Almela, P., Jimenez, A., Milanes, M.V., Sevilla, F. ve ark. (2015). CP-154,526 modifies CREB phosphorylation and thioredoxin-1

expression in the dentate gyrus following morphine-induced conditioned place preference. *PLoS One*, **10**, e0136164.

Gardmark, M., Höglund, A.U. ve Hammarlund-Udenaes, M. (1988). Aspects on tail-flick, hot-plate and electrical stimulation tests for morphine antinociception. *Pharmacology and Toxicology*, **83**, 252-258.

Gawel, K., Gibula-Bruzda E., Dziedzic, M., Jenda-Wojtanowska, M., Marszalek-Grabska, M. ve ark. (2017). Cholinergic activation affects the acute and chronic antinociceptive effects of morphine. *Physiology & Behavior*, **169**, 22-32.

Gerner, P., Mujtaba, M., Sinnott, C.J. ve Wang, G.K. (2001). Amitriptyline versus bupivacaine in rat sciatic nerve blockade. *Anesthesiology*, **94**, 661-667.

Ghelardini, C., Galeotti, N. ve Bartolini, A. (1997). Caffeine induces central cholinergic analgesia. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, **356**, 590-595.

Ghelardini, C., Galeotti, N. ve Bartolini, A. (2000). Antinociception induced by amitriptyline and imipramine is mediated by α_2A -adrenoceptors. *Japanese Journal of Pharmacology*, **82**, 130-137.

Gibson, R.D. ve Tingstad, J.E. (1970). Formulation of a morphine implantation pellet suitable for tolerance-physical dependence studies in mice. *Journal of Pharmaceutical Science*, **59**, 426-427.

Giglio, C.A., Defino, H.L., da-Silva, C.A., de-Souza, A.S., ve Del Bel, E.A. (2006). Behavioral and physiological methods for early quantitative assessment of spinal cord injury and prognosis in rats. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, **39**, 1613-1623.

Goldstein, D.B. (1979). Physical dependence on ethanol: its relation to tolerance. *Drug Alcohol and Dependence*, **4**, 33-42.

Gomez, J., Shannon, H., Kostenis, E., Felder, C., Zhang, L., Brodtkin, J. ve ark. (1999). Pronounced pharmacologic deficits in M_2 muscarinic acetylcholine receptor knockout mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **96**, 1692-1697.

- González, P., Cabello, P., Germany, A., Norris, B. ve Contreras, E. (1997). Decrease of tolerance to and physical dependence on morphine by glutamate receptor antagonists. *European Journal of Pharmacology*, **332**, 257-262.
- Gossop, M., Griffiths, P., Powis, B. ve Strang, J. (1992). Severity of dependence and route of administration of heroin, cocaine and amphetamines. *British Journal of Addiction*, **11**, 1527-1536.
- Grecksch, G., Just, S., Pierstorff, C., Imhof, A.K., Glück, L., Doll, C. ve ark. (2011). Analgesic tolerance to high-efficacy agonists but not to morphine is diminished in phosphorylation-deficient S375A μ -opioid receptor knock-in mice. *The Journal of Neuroscience*, **31**, 13890-13896.
- Gunn, A., Bobeck, E.N., Weber, C., Morgan, M.M. (2011). The influence of non-nociceptive factors on hot-plate latency in rats. *The Journal of Pain*, **12**, 222-227.
- Gupta, A., Mulder, J.G., Gomez, I., Rozenfeld, R., Bushlin, I., Ong, E. ve ark. (2010). Increased abundance of opioid receptor heteromers following chronic morphine administration. *Science Signaling*, 3:ra54.
- Gursoy, S., Ozdemir, E., Bahcivan, I., Altun, A. ve Durmus, R. (2011). Effects of alpha-2-adrenoreceptor agonists dexmedetomidine and guanfacine on morphine analgesia and tolerance in rats. *Uppsala Journal of Medical Sciences*, **116**, 238-246.
- Habibi-Asl, B., Vaez, H., Najafi, M., Bidaghi, A., Ghanbarzadeh, S. (2014). Attenuation of morphine-induced dependence and tolerance by ceftriaxone and amitriptyline in mice. *Acta Anaesthesiologica Taiwanica*, **52**, 163-168.
- Hall, F.S., Schwarzbaum, J.M., Perona, M.T.G, Templin, J.S., Caron, M.G. , Lesch, K.-P. ve ark. (2011). A greater role for the norepinephrine transporter than the serotonin transporter in murine nociception. *Neuroscience*, **175**, 315-327.
- Harada, H., Ueda H., Wada, Y., Katada, T., Ui, M., Satoh, M. (1989). Phosphorylation of mu-opioid receptors: a putative mechanism of selective uncoupling of receptor: Gi interaction, measured with low-Km GTPase and nucleotide-sensitive agonist binding. *Neuroscience Letters*, **100**, 221-226.

- Hargreaves, K., Dubner, R., Brown, F., Flores, C. ve Joris, J. (1988). A new and sensitive method for measuring thermal nociception in cutaneous hyperalgesia. *Pain*, **32**, 77-88.
- Harris, G.C. ve Aston-Jones, G. (1993). β -adrenergic antagonists attenuate withdrawal anxiety in cocaine- and morphine-dependent rats. *Psychopharmacology*, **113**, 131-136.
- Hartvig, P., Gilberg, P.G., Gordh, T. ve Post, J. (1989). Cholinergic mechanisms in pain and analgesia. *Trends in Pharmacological Science*, **75**, 9.
- Hayashida, K. ve Obata, H. (2019). Strategies to treat chronic pain and strengthen impaired descending noradrenergic inhibitory system. *International Journal of Molecular Sciences*, **20**, 822.
- Hepburn, M.J., Little, P.J., Gingras, J. ve Kuhn, C.M. (1997). Differential effects of naltrindole on morphine-induced tolerance and physical dependence in rats. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, **281**, 1350-1356.
- Hosseinzadeh, H., Parvardeh, S., Masoudi, A., Moghimi, M. ve Mahboobifard, F.(2016). Attenuation of morphine tolerance and dependence by thymoquinone in mice. *Avicenna Journal of Phytomedicine*, **6**, 55-66.
- Höglund, A.U. ve Baghdoyan, H.A. (1997). M2, M3 and M4, but not M1, muscarinic receptor subtypes are present in rat spinal cord. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, **281**, 470-477.
- Inoue, M., Mishina, M. ve Ueda, H. (2003). Locus-specific rescue of GluRepsilon1 NMDA receptors in mutant mice identifies the brain regions important for morphine tolerance and dependence. *Journal of Neuroscience*, **23**, 6529-6536.
- Irwin, S., Houde, R.W., Bennett, D.R., Hendershot, L.C, Seevers, M.H. (1951). The effects of morphine methadone and meperidine on some reflex responses of spinal animals to nociceptive stimulation. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, **101**, 132-143.
- Jensen, T.S. ve Yaksh, T.L. (1986). Comparison of the antinociceptive action of mu and delta opioid receptor ligands in the periaqueductal gray matter, medial and

- paramedial ventral medulla in the rat as studied by microinjection technique. *Brain Research*, **372**, 301-312.
- Jurna, I., Nell, T. ve Schreyer, I. (1970). Motor disturbance induced by tremorine and oxotremorine. *Nauyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, **267**, 80-98.
- Johnson, E.E., Christie, M.J. ve Connor, M. (2005). The role of opioid receptor phosphorylation and trafficking in adaptations to persistent opioid treatment. *Neuro-Signals*, **14**, 290-302.
- Jordan, B.A. ve Devi, L.A. (1999). G-protein coupled receptor heterodimerization modulates receptor function. *Nature*, **399**, 697-700.
- Kang, M., Mischel, R.A., Bhave, S., Komla, E., Cho, A., Huang, C. ve ark. (2017). The effect of gut microbiome on tolerance to morphine mediated antinociception in mice. *Scientific Reports*, **7**, 42658.
- Katzung, B.G. (2018). *Basic & Clinical Pharmacology*. (14th ed). New York: McGraw-Hill Education.
- Kayaalp, S.O. (2012). *Tıbbi Farmakoloji*. (13th ed). Ankara: Pelikan Yayıncılık.
- Kawamata, T., Omote, K., Kawamata, M. ve Namiki, A. (1999). Analgesic effect of intrathecal desipramine on carrageenan-induced thermal hyperalgesia in the rat. *British Journal of Anaesthesia*, **83**, 449-452.
- Kelsey, J.E., Verhaak, A.M.S., Schierberl, K.C. (2015). The kappa-opioid receptor antagonist, nor-binaltorphimine (nor-BNI), decreases morphine withdrawal and the consequent conditioned place aversion in rats. *Behavioural Brain Research*, **283**, 16-21.
- Kest, B., Hopkins, E., Palmese, C.A., Chen, Z.P., Mogil, J.S. ve Pintar, J.E. (2001). Morphine tolerance and dependence in nociceptin/orphanin FQ transgenic knock-out mice. *Neuroscience*, **104**, 217-222.
- Kihara, T. ve Kanetto, H. (1986). Important role of adrenergic function in the development of analgesic tolerance to morphine in mice. *Japanese Journal of Pharmacology*, **42**, 419-423.
- King, T.E., Joynes, R.L. ve Grau, J.W. (1997). Tail-flick test: II. The role of supraspinal systems and avoidance learning. *Behavioral Neuroscience*, **111**, 754-767.

- Ko, S.W., Wu, L.J., Shum, F. Quan, J. ve Zhuo, M. (2008). Cingulate NMDA NR2B receptor contributes to morphine-induced analgesic tolerance. *Molecular Brain*, **1**: 2.
- Koja, T., Kishita, C., Shimizu, T., Izumi, K. ve Fukuda, T. (1983). Pharmacological studies on neural mechanisms of clonic convulsions in mice: action of cholinergic drugs. *Japanese Journal of Pharmacology*, **33**, 328P.
- Kommalage, M. ve Höglund, A.U. (2005). Involvement of spinal serotonin receptors in the regulation of intraspinal acetylcholine release. *European Journal of Pharmacology*, **509**, 127-134.
- Koob, G.F. (1992). Neural mechanisms of drug reinforcement. *Annals of the New York Academy of Sciences*, **654**, 171-191.
- Korzeniewska-Rybicka, I. ve Plaźnik, A. (2000). Supraspinally mediated analgesic effect of antidepressant drugs. *Polish Journal of Pharmacology*, **52**, 93-99.
- Kosten, T.R. ve George, T.P. (2002). The neurobiology of opioid dependence: implications for treatment. *Science & Practice Perspectives*, **1**, 13-20.
- Koyuncuoğlu, H., Nurten, A., Yamantürk, P. ve Nurten, R. (1999). The importance of the number of NMDA receptors in the development of supersensitivity or tolerance to and dependence on morphine. *Pharmacological Research*, **39**, 311-319.
- König, M., Zimmer, A.M., Steiner, H., Holmes, P.V., Crawley, J.N., Brownstein, M.J. ve ark. (1996). Pain responses, anxiety and aggression in mice deficient in pre-proenkephalin. *Nature*, **383**, 535-538.
- Kubo, K., Nishikawa, K., Ishizeki, J., Hardy-Yamada, M., Yanagawa, Y. ve Saito, S. (2009). Thermal hyperalgesia supraspinal mechanisms in mice lacking glutamate decarboxylase 65. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, **331**, 162-169.
- Lau, B.K. ve Vaughan, C.W. (2014). Descending modulation of pain: the GABA disinhibition hypothesis of analgesia. *Current Opinion in Neurobiology*, **29**, 159-164.
- Lawson, K. (2017). A brief review of the pharmacology of amitriptyline and clinical outcomes in treating fibromyalgia. *Biomedicines*, **5**, 24.
- Le Bars, D., Gozariu, M. ve Cadden, S.W. (2001). Animal models of nociception. *Pharmacological Reviews*, **53**, 597-652.

- Levey, A.I. (1993). Immunological localization of m1-m5 muscarinic acetylcholine receptors in peripheral tissues and brain. *Life Sciences*, **52**, 441-448.
- Li, Y.C., Wong, C.H., Huang, E.Y., Lin, Y.C., Chen, Y.L. Tan, P.P. ve ark. (2001). Modulations of spinal serotonin activity affect the development of morphine tolerance. *Anesthesia and Analgesia*, **92**, 1563-1568.
- Lillius, T.O., Jokinen, V., Neuvonen, M.S., Niemi, V., Kalso, E.A. ve Rauhala, P.E. (2015). Ketamine coadministration attenuates morphine tolerance and leads to increased brain concentration of both drugs in the rat. *British Journal of Pharmacology*, **172**, 2799-2813.
- Listos, J., Lupina, M., Talarek, S., Mazur, A., Orzelska-Gorka, J. ve Kotlinska, J. (2019). The mechanisms involved in morphine addiction: an overview. *International Journal of Molecular Science*, **20**, 4302.
- Liu, S.J. ve Wang, R.I.H. (1981). Increased sensitivity of the central nervous system to morphine analgesia by amitriptyline in naive and morphine-tolerant rats. *Biochemical Pharmacology*, **30**, 2103-2109.
- Liu, J., Reid, A.R. ve Sawynnok, J. (2013). Spinal serotonin 5-HT₇ and adenosine A₁ receptors, as well as peripheral adenosine A₁ receptors are involved in antinociception by systemically administered amitriptyline. *European Journal of Pharmacology*, **698**, 231-219.
- Loeser, J.D. ve Melzack, R. (1999). Pain; an overview. *Lancet*, **353**, 1607-1609.
- Lohse, M.J., Krasel, C., Winstel, R. ve Mayor, F.Jr. (1996). G-protein-coupled receptor kinases. *Kidney International*, **49**, 1047-1052.
- Lomax, P. ve Jenden, D.J. (1966). Hypothermia following systematic and intracerebral injection of oxotremorine in the rat. *International Journal of Neuropharmacology*, **5**, 353-359.
- Lord, J.A., Waterfield, A.A., Hughes, J. Kosrerlitz, H.W. (1977). Multiple agonists and receptors. *Nature*, **267**, 495-499.
- Lueptow, L.M., Fakira, A.K. ve Bobeck, E.N. (2018). The contribution of the descending pain modulatory pathway in opioid tolerance. *Frontiers in Neuroscience*, **12**, 886.

- Luján, M. ve Rodríguez, R. (1981). Pharmacological characterization of opiate physical dependence in the isolated ileum of the guinea-pig. *British Journal of Pharmacology*, **73**, 859-866.
- Machelska, H., Pavone, F., Capone, F. ve Przewlocka, B. (1999). Antinociception after both peripheral and intrathecal injection of oxotremorine is modulated by spinal nitric oxide. *European Neuropsychopharmacology*, **9**, 213-217.
- Malcangio, M., Ghelardini, C., Giotti, A., Malmberg-Aiello, P. ve Bartolini, A. (1991). CGP 35348, a new GABA_B antagonist, prevents antinociception and muscle-relaxant effect induced by baclofen. *British Journal of Pharmacology*, **130**, 1303-1308.
- Maldonado, R., Micó, J.A., Valverde, O., Saavedra, M.C., Leonseguí, I. ve Gibert-Rahola, J. (1991). Influence of different benzodiazepines on the experimental morphine abstinence syndrome. *Psychopharmacology*, **105**, 197-203.
- Maldonado, R. (1997). Participation of noradrenergic pathways in the expression of opiate-withdrawal: biochemical and pharmacological evidence. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, **21**, 91-104.
- Mao, J., Price, D.D. ve Mayer, D.J. (1994). Thermal hyperalgesia in association with the development of morphine tolerance in rats: roles of excitatory amino acid receptors and protein kinase C. *The Journal of Neuroscience*, **14**, 2301-2312.
- Mao, J., Sung, B., Ji, R.R. ve Lim, G. (2002). Chronic morphine induces downregulation of spinal glutamate transporters: implications in morphine tolerance and abnormal pain sensitivity. *Journal of Neuroscience*, **22**, 8312-8323.
- Martini, L. ve Whistler, J.L. (2007). The role of mu opioid receptor desensitization and endocytosis in morphine tolerance and dependence. *Current Opinion in Neurobiology*, **17**, 556-564.
- Matsushita, Y., Idowu, O.I., Takehiro, M. ve Hiroshi, U. (2013). Microglia activation precedes the anti-opioid BDNF and NMDA receptor mechanisms underlying morphine analgesic tolerance. *Current Pharmaceutical Design*, **19**, 42.
- McDonald, J. ve Lambert, D.G. (2015). Opioids. *Continuing Education in Anaesthesia Critical Care & Pain*, **15**, 219-224.

- McDonald, R.L. ve Nelson, P.G. (1978). Specific-opiate-induced depression of transmitter release from dorsal root ganglion cells in culture. *Science*, **199**, 1449-1451.
- McNally, G.P. ve Akil, H. (2003). Selective down-regulation of hippocampal glucocorticoid receptors during opiate withdrawal. *Molecular Brain Research*, **118**, 152-155.
- McKearney, J.W. (1982). Effects of tricyclic antidepressant and anticholinergic drugs on fixed-interval responding in the squirrel monkey. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, **222**, 215-219.
- McLane, V.D., Bergguist, I., Cormier, J., Barlow, D.J., Houseknecht, K.L., Bilsky, E.J. ve ark. (2017). Long-term morphine delivery via slow release morphine pellets or osmotic pumps: plasma concentration, analgesia, and naloxone-precipitated withdrawal. *Life Sciences*, **185**, 1-7.
- Meyer, E.M. ve Olore, D.H. (1985). Pharmacological and ionic characterizations of the muscarinic receptors modulating [3H]acetylcholine release from rat cortical synaptosomes. *The Journal of Neuroscience*, **5**, 1202-1207.
- Milne, B., Cervenko, F.W., Jhamandas, K. ve Sutak, M. (1985). Intrathecal clonidine: analgesia and effect on opiate withdrawal in the rat. *Anesthesiology*, **62**, 34-38.
- Minett, M.S., Quick, K. ve Wood, J.N. (2011). Behavioral measures of pain threshold. *Current Protocols in Mouse Biology*, **1**, 383-412.
- Mischel, R.A., Dewey, W.L. ve Akbarali, H.I. (2018). Tolerance to morphine-induced inhibition of TTX-R sodium channels in dorsal root ganglia neurons is modulated by gut-derived mediators. *Science*, **27**, 193-209.
- Mogil J.S. (2009). Animal models of pain: progress and challenges. *Nature Reviews. Neuroscience*, **4**, 283-294.
- Mojtahedin, A., Tamaddonfard, E. ve Zambouri, A. (2009). Role of central muscarinic cholinergic receptors in the formalin-induced pain in rats. *Indian Journal of Pharmacology*, **41**, 144-147.

- Morgan, M.M., Bobeck, E.N. ve Ingram, S.L. (2009). Glutamate modulation of antinociception, but not tolerance, produced by morphine microinjection into periaqueductal gray of the rat. *Brain Research*, **1295**, 59-66.
- Morgan, M.M. ve Christie, M.J. (2011). Analysis of opioid efficacy, tolerance, addiction and dependence from cell culture to human. *British Journal of Pharmacology*, **164**, 1322-1334.
- Mun, M.F., Loh, Y.C., Tan, C.S., Adam, S.T., Manan, N.A. (2018). General pathways of pain sensation and the major neurotransmitters involved in pain regulation. *International Journal of Molecular Sciences*, **19**, 2164.
- Murakami, Y., Matsumoto, K. Ohta, H. ve Watanabe, H. (1996). Effects of oxotremorine and pilocarpine on striatal acetylcholine release as studied by brain dialysis in anesthetized rats. *General Pharmacology*, **27**, 833-836.
- Nadal, L., Garcia, N., Hurtado, E., Simó, A., Tomàs, M., Lanuza, M.A., Santafé, M. ve Tomàs, J. (2016). Presynaptic muscarinic acetylcholine autoreceptors (M1, M2 and M4 subtypes), adenosine receptors (A1 and A2A) and tropomyosin-related kinase B receptors (TrkB) modulate the developmental synapse elimination process at the neuromuscular junction. *Molecular Brain*, **9**, 67.
- Nakagawa, T. ve Satoh, M. (2004). Involvement of glial glutamate transporters in morphine dependence. *Annals of the New York Academy of Sciences*, **1025**, 383-388.
- Naser, P.V. ve Kuner, R. (2018). Molecular, cellular and circuit basis of cholinergic modulation of pain. *Neuroscience*, **387**, 135-148.
- Nestler, E.J. (2016). Reflections on “a general role for adaptations in G-proteins and the cyclic AMP system in mediating the chronic actions of morphine and cocaine on neuronal function”. *Brain Research*, **1645**, 71-74.
- Neugebauer, N.M., Einstein, E.B., Lopez, M.B., McCulure-Begley, T.D., Mineur Y.S. ve Picciotto, M.R. (2013). Morphine dependence and withdrawal induced changes in cholinergic signaling. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, **109**, 77-83.
- Nicoara, D., Zhang, Y., Nelson, J.T., Brewer, A.L., Maharaji P., DeWald, S.N. ve ark. (2016). Hyperbaric oxygen treatment suppresses withdrawal signs in morphine-dependent mice. *Brain Research*, **1648**, 434-437.

- Ogren, S.O. ve Berge, O.G. (1984). Test dependent variations in the antinociceptive effect of p-chloroamphetamine-induced release of 5-hydroxytryptamine. *Neuropharmacology*, **23**, 915-924.
- Ossipov, M.H., Dussor, G.O. ve Porreca, F. (2010). Central modulation of pain. *The Journal of Clinical Investigation*, **120**, 3779-3787.
- Ozdemir E., Gursoy, S. ve Bagcivan, I. (2012). The effects of serotonin/norepinephrine reuptake inhibitors and serotonin receptor agonist on morphine analgesia and tolerance in rats. *The Journal of Physiological Sciences*, **62**, 317-323
- Ozdogan, U.K., Lahdesmaki, J., Hakala, K. ve Scheinin, M. (2004). The involvement of alpha 2A-adrenoreceptors in morphine analgesia, tolerance and withdrawal in mice. *European Journal of Pharmacology*, **497**, 161-171.
- Özdemir S. (2018). Oksitosinin alfa-2 adrenoseptör duyarlılığını ve ağrı eşiğini artırmasının sıçanlarda morfine bağımlılık ve tolerans gelişmesine etkilerinin araştırılması. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü. Yüksek Lisans Tezi.
- Padgaonkar, A.V., Suryavanshi, S.V., Londhe, V.Y. ve Kulkarni, Y.A. (2018). Acutetoxicity study and antinociceptive activity of Bauhinia acuminata Linn. leaf extracts in experimental animal models. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, **97**, 60-66.
- Pages, N., Orosco, M., Fournier, G., Rouch, C., Hafi, A., Gourch, A. ve ark. (1991). The effects of chronic administration of morphine on the levels of brain and adrenal catecholamines and neuropeptid Y in rats. *General Pharmacology*, **22**, 943-947.
- Paudel, K.R., Das, B.P., Rauniar, G.P., Sangraula, H., Deos, C. ve Bhattacharya, S.K. (2007). Antinociceptive effect of amitriptyline in mice of acute pain models. *Indian Journal of Experimental Biology*, **45**, 529-531.
- Pavone, F., Consorti, D. ve Fagioli, S. (1989). Developmental differences of antinociceptive effects of oxotremorine in two inbred strains of mice. *Brain Research. Developmental Brain Research*, **49**, 156-160.
- Peart, J.N. ve Gross, G.J. (2004). Exogenous activation of delta-and kappa- opioid receptors affords cardioprotection in isolated murine heart. *Basic Research in Cardiology*, **99**, 29-37.

- Piercey, M.F. ve Schroeder, L.A. (1981). Spinal and supraspinal sites for morphine and neopam analgesia in the mouse. *European Journal of Pharmacology*, **74**, 135-140.
- Pinelli, A. ve Trivulzio, S. (1997). Quantitative evaluation of opioid withdrawal signs in rats repeatedly treated with morphine and injected with naloxone, in the absence or presence of the antiabstinence agent clonidine. *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods*, **38**, 117-131.
- Pleuvry, B.J. ve Tobias, M.A. (1971). Comparison of the antinociceptive activities of physostigmine, oxotremorine and morphine in the mouse. *British Journal of Pharmacology*, **43**, 706-714.
- Plone, M.A., Emerich, D.F. ve Lindner, M.D. (1996). Individual differences in the hotplate test and effects of habituation on sensitivity to morphine. *Pain*, **66**, 265-270.
- Polastron, J., Meunier, J.C. ve Jauzac, P. (1994). Chronic morphine induces tolerance and desensitization of mu-opioid receptor but not down-regulation in rabbit. *European Journal of Pharmacology*, **266**, 139-146.
- Pradhan, A.A., Walwyn, W., Nozaki, C., Filliol, D., Erbs, E., Matifas, A. ve ark. (2010). Ligand-directed trafficking of the δ -opioid receptor in vivo: two paths towards analgesic tolerance. *The Journal of Neuroscience*, **30**, 16459-16468.
- Ramabadran, K., Bansinat, M., Turndorf, H. ve Puig, M.M. (1989). The hyperalgesic effect of naloxone is attenuated in streptozotocin-diabetic mice. *Psychopharmacology (Berl)*, **97**, 169-174.
- Ramaswamy, S., Pillai, N.P., Gopalakrishnan, V. ve Ghosh, M.N. (1983). Effect on clonidine on the chronic morphine tolerance and on the sensitivity of the smooth muscles in mice. *Life Science*, **33**, 1167-1172.
- Randall, L.O. ve Selitto, J.J. (1957). A method for measurement of analgesic activity on inflamed tissue. *Archives Internationales de Pharmacodynamie et de Therapie*, **111**, 409-419.
- Riedel, W. ve Neeck, G. (2001). Nociception pain and antinociception: current concepts. *Zeitschrift für Rheumatologie*, **60**, 404-415.

- Robson, L.E., Mucha, R.F., Kosterlitz, H.W. (1983). The role of interaction between opiate receptors and alpha-adrenergic receptors in tolerance and dependence. *Biochemical Society Transactions*, **11**, 64-65.
- Romero, A., Miranda, H.F., Puig, M.M. (2010). Analysis of the opioid-opioid combinations according to the nociceptive stimulus in mice. *Pharmacological Research*, **61**, 511-518.
- Rosa, S.G., Quines, C.B., da Rocha, J.T., Bortolatto, C.F., Duarte, T. ve Nogueira, C.W. (2015). Antinociceptive action of diphenyl diselenide in the nociception induced by neonatal administration of monosodium glutamate in rats. *European Journal of Pharmacology*, **758**, 64-71.
- Sacerdote, P., Brini, A., Mantegazza, P. ve Panerai, A.E. (1987). A role of serotonin and beta-endorphin in the analgesia induced by tricyclic antidepressant drugs. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, **26**, 153-158.
- Satarian, L., Javan, M. ve Fathollahi, Y. (2008). Epinephrine inhibits analgesic tolerance to intrathecal administered morphine and increases the expression of calcium-calmodulin-dependent protein kinase II α . *Neuroscience Letters*, **430**, 213-217.
- Sawynok, J. ve Reid, A. (1986). Role of ascending and descending noradrenergic pathways in the antinociceptive effect of baclofen and clonidine. *Brain Research*, **386**, 341-350.
- Semenova, S., Kuzmin, A. ve Zvartau, E. (1995). Strain differences in the analgesic and reinforcing action of morphine in mice. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, **50**, 17-21.
- Sethy, V.H. ve Francis, J.W. (1990). Pharmacokinetics of muscarinic cholinergic drugs as determined by ex-vivo (3H)-oxotremorine-M binding. *Journal of Pharmacological Methods*, **23**, 285-296.
- Sharma, S.K., Klee, W.A. ve Nirenberg, M. (1975). Dual regulation of adenylate cyclase accounts for narcotic dependence and tolerance. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **72**, 3092-3096.

- Shenoy, S.K. ve Lefkowitz, R.J. (2003). Multifaceted roles of beta-arrestins in the regulation of seven-membrane-spanning receptor trafficking and signalling. *The Biochemical Journal*, **375**, 503-515.
- Sikka, P., Kaushik, S., Kumar, G., Kapoor, S., Bindra, V.K. ve Saxena, K.K. (2011). Study of the antinociceptive activity of SSRI (fluoxetine and escitalopram) and typical antidepressants (venlafaxine and mirtazepine) and their interaction with morphine and naloxone in mice. *Journal of Pharmacy & Bioallied Sciences*, **3**, 412-416.
- Sindrup, S.H., Otto, M., Finnerup, N.B. ve Jensen, T.S. (2005). Antidepressants in the treatment of neuropathic pain. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology*, **96**, 399-409.
- Smith, C.B., Moises, H.C., Spengler, R.N. ve Hollingsworth, P.J. (1989). Changes in alpha-2 adrenoceptor number and function in brains of morphine-dependent rats. *European Journal of Pharmacology*, **161**, 111-119.
- Smith, F.L., Javed, R.R., Smith, P.A., Dewey, W.L. ve Gabra, B.H. (2006). PKC and PKA inhibitors reinstate morphine-induced behaviors in morphine tolerant mice. *Pharmacological Research*, **54**, 474-480.
- Steeds, C.E. (2016). The anatomy and physiology of pain. *Surgery*, **34**, 2.
- Stone, L.S., MacMillan, L.B., Kitto, K.F., Limbird, L.E. ve Wilcox, G.L. (1997). The alpha2a adrenergic receptor subtype mediates spinal analgesia evoked by alpha2 agonists and is necessary for spinal adrenergic-opioid synergy. *Journal of Neuroscience*, **17**, 7157-7165.
- Stone, L.S., German, J.P., Kitto, K.F., Fairbanks, C.A. ve Wilcox, G.L. (2014). Morphine and clonidine combination therapy improves therapeutic window in mice: synergy in antinociceptive but not in sedative or cardiovascular effects. *Public Library of Science*, **9**, 10.
- Suzuki, T. (1990). Pharmacological studies on drug dependence in rodents: dependence on opioids and CNS depressants. *Japanese Journal of Pharmacology*, **52**, 1-10.s

- Suzuki, T., Tsuji, M., Mori, T., Misawa, M. ve Nagase, H. (1995). Effects of naltrindole on the development of physical dependence on morphine in mice: a behavioral and biochemical study. *Life Sciences*, **57**, 247-252.
- Tai, Y.H., Wang, Y.H., Wang, J.J., Tao, P.L., Tung, C.S. ve Wung, C.S. (2006). Amitriptyline suppresses neuroinflammation and up-regulates glutamate transporters in morphine-tolerant rats. *Pain*, **124**, 77-86.
- Taiwo, O.B., Kovacs, K.J., Sperry, L.C. ve Larson, A.A. (2004). Naloxone-induced morphine withdrawal increases the number and degranulation of mast cells in the thalamus of mouse. *Neuropharmacology*, **46**, 824-835.
- Tamaddonfard, E. ve Erfanparast, A. (2017). Role of μ -opioid receptor in parafascicular nucleus of thalamus on morphine-induced antinociception in a rat model of acute trigeminal pain. *Veterinary Research Forum*, **8**, 29-34.
- Tappe-Theodor, A. ve Kuner, R. (2014). Studying ongoing and spontaneous pain in rodents-challenges and opportunities. *The European Journal of Neuroscience*, **39**, 1881-1890.
- Tayebi, P., Kheirkhah, F., Tayebi, G. ve Moghadamnia A.K. (2008). Tramadol effect on morphine dependency and analgesia in mice. *International Journal of Pharmacology*, **4**, 452-459.
- Thomsen, M., Sørensen G. ve Dencker, D. (2018). Physiological roles of CNS muscarinic receptors gained from knockout mice. *Neuropharmacology*, **136**, 411-420.
- Timar, J., Gyarmati, Z. ve Fürst, Z. (2005). The development of tolerance to locomotor effects of morphine and effects of various opioid receptor antagonists in rats chronically treated with morphine, *Brain Research Bulletin*, **64**, 417-424.
- Trescot, A.M., Datta, S., Lee, M., Hansen, H. (2008). Opioid Pharmacology. *Pain Physician*, **11**, 133-153.
- Trujillo, K.A. (2000). Are NMDA receptors involved in opiate-induced neural and behavioral plasticity? A review of preclinical studies. *Psychopharmacology (Berl)*, **151**, 121-141.

- Tura, B. ve Tura, S.M. (1990).The analgesic effect of tricyclic antidepressants. *Brain Research*, **518**, 19-22.
- Turski, W.A., Czuczwar, S.J., Klinok, S. ve Turski L. (1983). Cholinomimetics produce seizures and brain damage in rats. *Experientia*, **39**, 1408-1411.
- Ueda, H., Inoue, M., Kiyonobu, M. (2003). New approaches to study the development of morphine tolerance and dependence. *Life Sciences*, **74**, 313-320.
- Ueda, H. ve Ueda, M. (2009). Mechanisms underlying morphine analgesic tolerance and dependence. *Frontiers in Bioscience*, **14**, 5260-5272.
- Urban, L., Willetts, J., Murase, K., Randic, M. (1989). Cholinergic effects on spinal dorsal horn neurons in vitro: an intracellular study. *Brain Research*, **500**, 12-20.
- Valverde, O., Micó, J.A., Maldonado, R., Mellado, M. ve Gibert-Rahola, J. (1994). Participation of opioid and monoaminergic mechanisms on the antinociceptive effect induced by tricyclic antidepressants in two behavioural pain tests in mice. *Progress in Neuro-psychopharmacology & Biological Psychiatry*, **18**, 1073-1092.
- von Zastrow, M., Svingos, A., Haberstock-Debic, H. ve Evans, C. (2003). Regulated endocytosis of opioid receptors: cellular mechanisms and proposed roles in physiological adaptation to opiate drugs. *Current Opinion in Neurobiology*, **13**, 348-353.
- Vela, G., Ruiz-Gayo, M., Fuentes, J.A. (1995). Anandamide decreases naloxone-precipitated withdrawal signs in mice chronically treated with morphine. *Neuropharmacology*, **34**, 665-668.
- Vicente-Rodriguez, M., Perez-Garcia, C., Gramage, E. ve Herradon, Gonzalo. (2013). Genetic inactivation of pleiotrophin but not midkine potentiates clonidine-induced alpha-2 adrenergic-mediated analgesia. *Pharmacology, Biochemistry and Behaviour*, **110**, 185-191.
- Wahba, Z.Z., Oriaku, E.T. ve Soliman, K.F. (1987). Brain cholinergic involvement during the rapid development of tolerance to morphine. *Pharmacology*, **34**, 66-73.
- Watkins, L.R., Hutchinson, M.R., Johnston, I.N. ve Maier, S.F. (2005). Glia: novel counter-regulators of opioid analgesia. *Trends in Neurosciences*, **28**, 661-669.

- Wei, J., Wakton, E.A., Milici, A. ve Buccafusco, J.J. (1994). M1-m5 muscarinic receptor distribution in rat CNS by RT-PCR and HPLC. *Journal of Neurochemistry*, **63**, 815-821.
- Wess, J., Duttaroy, A., Gomeza, J., Zhang, W., Yamada, M., Felder, C.C. ve ark. (2003). Muscarinic receptor subtypes mediating central and peripheral antinociception studied with muscarinic receptor knockout mice: a review. *Life Sciences*, **72**, 2047-2054.
- Widman, M., Tuckers, S. ve Dewey, W.L. (1985). Cholinergic agents: antinociception without morphine type dependence in rats. *Life Sciences*, **36**, 2007-2015.
- Winter, C.A ve Flataker, L. (1965). Reaction thresholds to pressure in edematous hindpaws of rats and responses to analgesic drugs. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, **15**, 165-171.
- Wong, C.L. ve Bentley, G.A. (1980). The effects of cholinergic compounds on the development of morphine tolerance, dependence and increased naloxone potency in mice. *European Journal of Pharmacology*, **61**, 99-109.
- Woolf, C.J., Mannion, R.J. ve Neumann, S. (1998). Null mutations lacking substance: elucidating pain mechanisms by genetic pharmacology. *Neuron*, **20**, 1063-1066.s
- Woolfe, G. ve MacDonald, A.D. (1944). The evaluation of analgesic action of pethidine hydrochloride (Demerol). *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, **80**, 300-307.
- Wooten, G.F., DiStephano, P. ve Collins, R.C. (1982). Regional cerebral glucose utilization during morphine withdrawal in the rat. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **79**, 3360-3364.
- Wu, S.Z., Chen, K.T., Chen, J.Y., Sung, K.C., Wang, J.J., Liu, K.S. ve ark (2012). Phenothiazine-type antipsychotics may attenuate naloxone-precipitated withdrawal jumping in morphine-dependent mice. *Acta Anaesthesiologica Taiwanica*, **50**, 167-171.
- Xu, J.Y. ve Tseng, L.F. (1994). Role of nitric oxide/cyclic GMP in i.c.v administered beta-endorphin-and (+)-cis-dioxolane-induced antinociception in the mouse. *European Journal of Pharmacology*, **262**, 223-231.

- Yaksh, T.L. (1985). Pharmacology of spinal adrenergic systems which modulatespinal nociceptive processing. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, **22**, 848-858.
- Yang, G., Zhou, W. ve Zhang, F. (1997). Experimental study of selective muscarinic receptor antagonists on attenuation of morphine tolerance and dependence in rats. *Zhounghua Yi Xue Za Zhi*, **77**, 130-133.
- Yeomans, D.C., Pirec, V. ve Proudfit, H.K. (1996). Nociceptive responses to high and low rates of noxious cutaneous heating are mediated by different nociceptors in the rat: behavioral evidence. *Pain*, **68**, 133-140.
- Yoburn, B.C., Morales, R., Kelly, D.D. ve Inturrisi, C.E. (1984). Constraints on the tail flick assay: morphine analgesia and tolerance are dependent upon locus of tail stimulation. *Life Sciences*, **34**, 1755-1762.
- Yuill, M.B., Zee, M.L., Marcus,D., Morgan, D.J. (2016). Tolerance to antinociceptive and hypothermic effects of morphine is mediated by multiple isoforms of c-Jun N-terminal kinase. *Neuroreport*, **27**, 392-396.
- Zarrindast, M.R., Sajedian, M., Rezayat, M. ve Ghazi-Khansari, M. (1995). Effects of 5-HT receptor antagonists on morphine-induced tolerance in mice. *European Journal of Pharmacology*, **273**, 203-207.
- Zarrindast, M.R. ve Torkaman-Boutorabi, A. (2003). Effects of imipramine on the expression and development of morphine dependence in mice. *European Journal of Pharmacology*, **473**, 19-25.

ETİK KURUL KARARI



T.C
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU



Sayın Prof. Dr. Nurhan ENGİNAR
İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi
Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı

Karar No:2019/ 04

Başvuru : 22.07.2019/ 47033

Toplantı Tarihi : 25.07.2019

Sorumluluğunu üstlendiğiniz, aşağıda çalışma materyali belirtilen "Farelerde Morfine Tolerans ve Bağımlılık Gelişmesinde Oksotremorinin ve Amitriptilinin Etkilerinin Araştırılması" isimli projeniz Kurulumuz tarafından incelenmiş ve Etik Kurul ilkelerine uygun bulunmuştur.

Çalışılacak Hayvanın	Türü	Fare
	Cinsiyeti	Erkek
	Sayısı	55
Proje Başlangıç/Bitiş Tarihi	19.08.2019 – 08.12.2019	

Uğur
Prof. Dr. Uğur KOLAK
Başkan

(-) (izini)
Prof. Dr. Alper OKYAR
Başkan Yardımcısı

(-)
Prof. Dr. Mustafa Oral ÖNCÜL
Üye

Buket
Prof. Dr. Büket AYBAR
Üye

Hatice
Prof. Dr. Hatice Bülge BEÇERİR
Üye

Uğur
Doç. Dr. Uğur AKSU
Üye

(-)
Doç. Dr. Aygül EKİCİ
Üye

Ali
Dr. Öğr. Üyesi Aydın ÇEVİK
Üye

Fatma
Dr. Öğr. Üyesi Fatma TEKELİ
Üye

Burak
Mak. Yük. Müh. Dr. Burak
OLGUN
Üye

Selma
Av. Selma DEMİR
Üye

İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI

FARELERDE MORFİNE TOLERANS VE BAĞIMLILIK GELİŞMESİNDE OKSOTREMORİNİN VE AMİTRİPTİLİNİN ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

ORJİNALLİK RAPORU

% 3	% 2	% 2	% 2
BENZERLİK ENDEKSİ	İNTERNET KAYNAKLARI	YAYINLAR	ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1	Submitted to Istanbul University Öğrenci Ödevi	% 1
2	www.tfd.org.tr İnternet Kaynağı	<% 1
3	www.science.gov İnternet Kaynağı	<% 1
4	kongre.saykad.net İnternet Kaynağı	<% 1
5	epdf.tips İnternet Kaynağı	<% 1
6	repositorio.ufsm.br İnternet Kaynağı	<% 1
7	www.mdpi.com İnternet Kaynağı	<% 1
8	Hiroshi Ueda. "Anti-Opioid Systems in Morphine	<% 1

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	Evrin	Soyadı	Zeren Birer
Doğ.Yeri	İstanbul	Doğ.Tar.	17/08/1980
Email	zerenev@hotmail.com	Uyruğu	Türkiye Cumhuriyeti

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mez. Yılı
Ön.Lis	Anadolu Üniversitesi Marka İletişimi	2014
Lisans	İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi	2004
Lise	Moda Lisesi	1998

İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

	Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)		
1.	Medikal içerik üreticisi	Freelance	2		
2.	Hayvan sağlığı iş geliştirme ruhsatlandırma uzmanı	Boehringer Ingelheim İlaç Tic. A.Ş.	3		
3.	Medikal danışman	Argos İletişim	2		
4.	Medikal danışman	Assos İlaç	2		
5.	Ruhsatlandırma Uzmanı	Biovita İlaç	4		
Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma *	Yazma*	KPDS/ÜDS Puanı	(Diğer)Puanı
İngilizce	çok iyi	iyi	iyi		
Almanca	orta	zayıf	orta		

*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
LES Puanı			
(Diğer) Puanı			

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi
MS office	iyi

Özel İlgi Alanları (Hobileri):Seyahat etmek, doğa yürüyüşü, bitki bakımı ve bahçe işleri