

SAFİYE ÖZDEMİR ÇEZİK

İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ SAĞ. BİL. ENST.

YÜKSEK LİSANS TEZİ

İSTANBUL-2018

← 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

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

(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

**OKSİTOSİNİN ALFA-2 ADRENOSEPTÖR
DUYARLILIĞINI VE AĞRI EŞİĞİNİ ARTIRMASININ
SIÇANLARDA MORFİNE BAĞIMLILIK VE TOLERANS
GELİŞMESİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

SAFİYE ÖZDEMİR ÇEZİK

**DANIŞMAN
PROF. DR. NURHAN ENGİNAR**

**TIBBİ FARMAKOLOJİ VE KLİNİK FARMAKOLOJİ
PROGRAMI**

İSTANBUL-2018

TEZ ONAYI

İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü İstanbul Fakültesi, Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı, Tıbbi Farmakoloji ve Klinik Farmakoloji Programında Yüksek Lisans öğrencisi Safiye ÖZDEMİR ÇEZİK tarafından Prof. Dr. Nurhan ENGİNAR'ın danışmanlığında hazırlanan "Oksitosinin alfa-2 adrenoseptör duyarlılığını ve ağrı eşiğini artırmasının sıçanlarda morfine bağımlılık ve tolerans gelişmesine etkilerinin araştırılması" başlıklı tez aşağıdaki jüri üyeleri tarafından 28/12/2018 tarihinde yapılan Tez Savunma Sınavında başarılı bulunmuş ve Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı

Prof. Dr. Ali Yağız 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

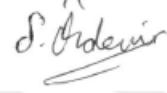
Prof. Dr. Ahmet Gökhan AKKAN
İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa-
Cerrahpaşa Tıp Fakültesi
Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı

Jüri

Prof. Dr. Güner ULAK
Kocaeli 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 çalışmayla 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.

SAFİYE ÖZDEMİR ÇEZİK

İTHAF

Bu tez çalışmamı babama ithaf ediyorum.

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca kıymetli bilgi, birikim ve tecrübelerini benimle paylaşmaktan kaçınmayan, her adımda bana destek olan, onunla çalışmaktan onur duyduğum sabır ve anlayış timsali çok kıymetli danışman hocam Prof. Dr. Nurhan Enginar'a sonsuz şükranlarımı sunuyorum. Deneyler sırasında birlikte çalıştığım ve değerli bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım hocam Prof. Dr. Asiye Nurten'e (İstanbul Yeni Yüzyıl Üniversitesi Tıp Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı), yakın ilgi ve desteklerinden ötürü hocalarım Prof. Dr. İclal Hatipoğlu, Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Ali Yağız Üresin ve Prof. Dr. Pınar Yamantürk Çelik'e, deneylerde yardımlarını esirgemeyen Vet. Hekim Berna Midilli ve Dr. Mert Kaşkal'a, istatistik hesapları konusunda büyük yardımları dokunan, samimi davranışları ile desteğini hissettiğim Dr. Başak Gürtekin'e, yakın ilgisi ile yanımda olan Dr. Betül Sayın'a ve küçük veya büyük yardımını esirgemeyen başta anabilim dalı sekreterimiz Elif Şimşek'e ve diğer anabilim dalı çalışanlarına sonsuz teşekkür ederim. Ayrıca gerek ders döneminde gerekse çalışmalarım boyunca beni sabırla destekleyen sevgili eşim Bülent Çezik'e, hayatım boyunca benden sevgisini, desteğini ve sabrını esirgemeyen anneme ve varlıklarını hiçbirşeye değişmeyeceğim, hayatımı güzelleştiren ve anlam katan kızlarım Serra ve Belis'e 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. Oksitosin	3
2.1.1. Oksitosinin Genel Özellikleri.....	3
2.1.2. Oksitosin Reseptörleri.....	3
2.1.3. Oksitosinin Salgılanması.....	4
2.1.4. Oksitosinin Etkileri	5
2.2. Ağrı	6
2.2.1. Ağrı Mekanizmaları ve İletimi.....	7
2.3. Deneysel Nosisepsiyon Testleri ve Ağrı Modelleri	9
2.4. Vücut Sıcaklığının Düzenlenmesi.....	11
2.5. Bağımlılık ve Tolerans Oluşumu	12
2.6. Morfin	14
2.6.1. Morfin Bağımlılığı ve Toleransı	15
2.7. Klonidin	17
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	18
3.1. Deney Hayvanları	18
3.2. Droglar ve Uygulamalar	18
3.3. Kızgın Levha Testi.....	18
3.4. Kuyruk Daldırma Testi	19
3.5. Vücut Sıcaklığı Ölçümü.....	19

3.6. Deneylerin Yürütülmesi	19
3.6.1. Deney 1. Beş gün oksitosin uygulanan sıçanlarda ağrı eşiğinin ve vücut sıcaklığının değerlendirilmesi	22
3.6.2. Deney 2. Beş gün oksitosin uygulanan sıçanlarda morfine tolerans gelişmesinin değerlendirilmesi	22
3.6.2.1. Deney 2a. Morfinin etkisinin zamana göre seyrinin değerlendirilmesi	22
3.6.2.2. Deney 2b. Ek doz morfinin etkisinin değerlendirilmesi	22
3.6.3. Deney 3. Beş gün oksitosin uygulanan sıçanlarda morfine bağımlılık gelişmesinin ve klonidine yanıtın değerlendirilmesi	22
3.6.4. Deney 4. Beş gün oksitosin uygulanan sıçanlarda ağrı eşiğinde ve vücut sıcaklığında klonidine yanıtın değerlendirilmesi	23
3.7. İstatistiksel Değerlendirme	23
4. BULGULAR	24
4.1. Deney 1. Beş gün oksitosin uygulanmasının sıçanlarda ağrı eşiği ve vücut sıcaklığına etkisi	24
4.2. Deney 2. Beş gün oksitosin uygulanmasının sıçanlarda morfine tolerans gelişmesine etkisi	26
4.2.1. Deney 2a. Morfinin etkisinin zamana göre seyri	26
4.2.2. Deney 2b. Ek doz morfinin etkisi	29
4.3. Deney 3. Oksitosinin morfine bağımlılık gelişmesine etkisi ve yoksunluk belirtilerinin klonidine yanıtı	31
4.4. Deney 4. Beş gün oksitosin uygulanan sıçanlarda ağrı eşiğinde ve vücut sıcaklığında klonidine yanıt	33
5. TARTIŞMA	35
KAYNAKLAR	46
ETİK KURUL KARARI	59
İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI	60
ÖZGEÇMİŞ	61

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 3-1: Deney grupları ve deney akışı.....	21
Tablo 4-1: Beş gün oksitosin uygulanan sıçanlarda morfine bağımlılık gelişmesi ve yoksunluk belirtilerinin klonidine yanıtı.....	32



ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2-1: Ağrılı uyaranların periferden omurilik ve üst merkezlere iletilmesi-Babacan (2011).....	8
Şekil 4-1: Beş gün oksitosin uygulanan sıçanlarda vücut ağırlığı değişikliği	24
Şekil 4-2: Beş gün oksitosin uygulanan sıçanlarda ağrı eşiği ve vücut sıcaklığı	25
Şekil 4-3: Beş gün oksitosin uygulanan sıçanlarda morfinin ağrı eşiğine ve vücut sıcaklığına etkisinin zamana göre seyri	28
Şekil 4-4: Beş gün oksitosin uygulanan sıçanlarda morfinin ağrı eşiği ve vücut sıcaklığına etkisine tolerans gelişiminde ek doz morfine yanıt	30
Şekil 4-5: Beş gün oksitosin uygulanan sıçanlarda ağrı eşiği ve vücut sıcaklığında klonidine yanıt	34

ÖZET

Özdemir Çezik, S. (2018). Oksitosinin alfa-2 adrenoseptör duyarlılığını ve ağrı eşiğini artırmasının sıçanlarda morfine bağımlılık ve tolerans gelişmesine etkilerinin araştırılması. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı. Yüksek Lisans Tezi. İstanbul.

Tekrarlayan oksitosin uygulamasının sıçanlarda nosiseptif eşikte artış, kan basıncında ve kortikosteren düzeyinde düşme gibi etkilerinin endojen opioidlerin sentez ve salıverilmesindeki ve/veya locus coeruleus'ta alfa-2 adrenerjik reseptör yanıt verirliliğindeki artışa bağlı olabileceği öne sürülmüştür. Morfin bağımlılığında locus coeruleus'ta noradrenerjik etkinlik arttığı ve alfa-2 adrenoseptör agonistleri yoksunluk belirtilerini ve analjezik etkilere tolerans gelişimini azalttıkları için oksitosinin ikincil etkileri morfine tolerans ve bağımlılık gelişimini etkileyebilir. Bu çalışmada; 5 gün deri altı yolu ile serum fizyolojik (kontrol) veya 1 mg/kg oksitosin (oksitosin) uygulanan ve ardından plasebo veya morfin peleti konulan sıçanlarda, analjezik ve hipotermik etkilere tolerans gelişmesi, nalokson ile yoksunluk oluşması ve ağrı eşiği, vücut sıcaklığı ve yoksunluk belirtilerinde klonidine yanıt değerlendirildi. Son dozdan 1 gün sonra oksitosin verilen hayvanlarda ağırlık kaybı ve kızgın levha testinde ayak çekme süresinde uzama saptandı. Kontrol-morfin ve oksitosin-morfin gruplarında 4, 24 ve 48 saat sonra zamana bağlı azalma gösteren analjezi ve vücut sıcaklığında artış ortaya çıktı. Ek doz morfin uygulanması kontrol-morfin grubunda kızgın levhada ve oksitosin-morfin grubunda kızgın levha ve kuyruk daldırma testlerinde analjezik etkiye tolerans geliştiğini gösterdi. Oksitosin-morfin grubunda analjezik ve hipertermik etkilere tolerans daha belirgin, yoksunluk daha hafif oldu. Klonidin, kontrol-morfin ve oksitosin morfin gruplarında yoksunlukta sıçramayı güçlendirdi, oksitosin-plasebo grubunda kuyruk daldırma testinde ağrı eşiğini yükseltti ve vücut sıcaklığını düşürdü. Bulgular, oksitosin verilen hayvanlarda opioidlerjik etkinlik ve/veya alfa-2 adrenoseptör duyarlılığı artışına ilişkin iddia ve bulguları destekler nitelikte oldu. Ancak, tolerans gelişiminin güçlenmesi ve yoksunluk belirtilerinin klonidine yanıtında belirgin farkın ortaya çıkmaması, 5 gün oksitosin uygulamasına bağlı değişikliklerin morfin bağımlılığı ve toleransına etkilerinin değerlendirilmesinin daha ileri çalışmaları gerektirdiğini gösterdi.

Anahtar Kelimeler: oksitosin, morfin bağımlılığı, klonidin, tolerans, analjezi

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 22059

ABSTRACT

Özdemir Çezik S. (2018). Investigation of the effects of oxytocin-induced increase in alpha-2 adrenoceptor sensitivity and pain threshold on the development of morphine dependence and tolerance in rats. İstanbul University, Institute of Health Science, Department of Medical Pharmacology. Yüksek Lisans Tezi. İstanbul.

It has been suggested that the increase in the nociceptive threshold, decrease in the blood pressure and corticosterone levels after repeated treatment with oxytocin have been suggested to depend on an increase in the synthesis and release of endogenous opioids and/or alpha-2 adrenoceptor responsiveness in rats. The secondary effects of oxytocin may affect the development of dependence and tolerance to morphine, since noradrenergic activity increases in the locus coeruleus in morphine dependence and alpha-2 agonists decrease withdrawal signs and tolerance to the analgesic effects. In the present study, development of tolerance to the analgesic and hypothermic effects, naloxone-induced withdrawal and response to clonidine in nociceptive threshold, body temperature and withdrawal signs were assessed in rats implanted with naloxone or morphine pellets following 5 days s.c. saline (control) or 1 mg/kg oxytocin (oxytocin) administrations. One day after the last dose, weight loss and increase in paw withdrawal latency was measured in oxytocin given animals. Analgesia and hyperthermia with time-dependent attenuation exhibited in the control-morphine and oxytocin-morphine groups 4, 24, and 48 h after pelleting. Morphine challenge demonstrated development of tolerance to the analgesic effect in the hot plate test in the control-morphine, and in the hot plate and tail immersion tests in the oxytocin-morphine groups. Tolerance was marked in the analgesic and hyperthermic effects and withdrawal was less in the oxytocin-morphine group. Clonidine potentiated jumping during withdrawal in the control-morphine and oxytocin-morphine groups and increased nociceptive threshold in the tail immersion test and decreased body temperature in the oxytocin-placebo group. The results supported the claims and findings that opioidergic activity and/or alpha-2 adrenoceptor sensitivity increases in oxytocin given animals. However, the potentiation of tolerance development and the absence of marked differences in response to clonidine in the withdrawal signs indicated that further studies are required to evaluate the effects of repeated oxytocin administration related changes on morphine dependence and tolerance.

Key Words: oxytocin, morphine dependence, clonidine, tolerance, analgesia

The present work was supported by the Research Fund of İstanbul University. Project No. 22059

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Nörohipofizden salgılanan oksitosinin iyi bilinen endokrin etkileri doğum sırasında uterus kasılmalarını uyarması ve doğumdan sonra laktasyonu sağlamasıdır. Maternal, sosyal ve seksüel davranışlarda önemli rol oynayan oksitosin beyinde nöromodülatör olarak da çeşitli etkiler gösterir (Viero ve ark. 2010). Akut veya kronik uygulandığı hayvanlarda vücut sıcaklığında düşmeye (Hicks ve ark. 2014), öğrenme ve bellek değişikliklerine (Kovacks ve De Wied 1994), analjeziye (Abbasnezhad ve ark. 2016; Condés-Lara ve ark. 2006) ve kaygı düzeyinde azalmaya (van der Burg ve ark. 2015) yol açtığı gösterilmiştir. Oksitosinin deney hayvanlarında opiyatlara bağımlılık ve analjezik etkiye ve lokomotor aktivite artışına tolerans gelişmesini baskılaması, yoksunluk sendromunu hafifletmesi (Kovacks ve ark. 1998) ve endojen opioidlerin salıverilmesine yol açması (Yang 1994), uzun süreli morfin uygulamasının oksitosin sentezini azaltması (You ve ark. 2000) ve nalokson ile oluşan yoksunlukta oksitosin nöronlarında ateşleme hızının artması (Brown ve ark. 2005) gibi bulgular, endojen opioidlerjik sistem ile oksitosin arasında bir etkileşmenin olabileceğini düşündürmektedir. Bu verilere dayanılarak oksitosinin, morfin bağımlılığının tedavisinde yarar sağlayabileceğine ilişkin görüşler ortaya atılmıştır (McGregor ve Bowen 2012).

Akut uygulamadan farklı olarak 5 veya 10 gün tekrarlayan dozda oksitosin uygulanan sıçanlarda son dozdan sonraki dönemde; nosiseptif eşikte yükselme, kan basıncında düşme, lokomotor aktivite kalıbında değişme ve plazma kortikosteron düzeylerinde azalma görülmüş (Petersson ve ark. 1996; 1999; 2005b), bu etkilerden bazıları ‘antistres’ etki olarak nitelendirilmiştir (Petersson ve ark. 1998; Uvnäs-Moberg 1997). Antinoseptif etki morfin antagonisti naloksan ile önlendiği için endojen opioid peptidlerin sentez ve salıverilmesinde bir artışın olabileceği öne sürülmüştür. Kan basıncındaki azalmanın ve locus coeruleus’ta noradrenerjik nöronların ateşleme hızındaki artışın alfa-2 adrenerjik reseptör agonisti klonidine daha güçlü yanıt vermesi, bu reseptörlerde duyarlılık artışına fizyolojik kanıt olarak kabul edilmiştir (Petersson ve ark. 1996; 1998; 1999). Ayrıca beyin bölgelerinde artmış alfa-2 adrenerjik reseptör yoğunluğu ek destek oluşturmuştur (Petersson ve ark. 2005a).

Kronik morfin uygulamasında tolerans, bağımlılık ve kullanıma birden son verildiğinde ortaya çıkan yoksunluk sendromu tıbbi ve sosyal sorun oluşturur. Bu nedenle, morfine tolerans oluşumunun ve bağımlılık gelişmesinin engellenmesi ve yoksunluk belirtilerinin hafifletilmesi veya önlenmesi için altta yatan mekanizmaların anlaşılmasına yönelik yoğun araştırmalar yapılmaktadır (Ueda ve Ueda 2009; Bodnar 2018). Uzun süreli morfin uygulamasında locus coeruleus'ta nöroadaptif değişikliklerin olduğu, yoksunlukta noradrenerjik etkinliğin arttığı bilinmektedir (Smith ve ark. 1989; Nestler ve ark. 1994). Bu nedenle, klonidin ve deksmedetomidin gibi alfa-2 adrenerjik agonistler noradrenalin salıverilmesini azaltarak yoksunluk belirtilerini ve toleransı hafifletirler (Taylor ve ark. 1988; Gursoy ve ark. 2011).

Tüm bu bilgilere dayanılarak, tekrarlayan oksitosin uygulaması sonrası ortaya çıkan analjezinin altta yatan olası mekanizması endojen opioidlerjik etkinlikteki artışın ve artmış alfa-2 adrenoseptör yanıt verirliliğinin morfinin analjezik ve hipotermik etkilerine tolerans gelişmesini ve bağımlılık oluşturmalarını etkileyebileceği öne sürülebilir. Bu çalışmada; 5 gün deri altı yolu ile 1 mg/kg oksitosin uygulanan ve ardından morfin peleti ile bağımlılık oluşturulan sıçanlarda, ağrı eşiği ve vücut sıcaklığı ölçümleri ile analjezik ve hipotermik etkiye tolerans oluşması, nalokson ile oluşturulan yoksunluk belirtileri ile bağımlılık gelişmesi ve ağrı eşiği, vücut sıcaklığı ve yoksunluk belirtilerinde klonidine yanıt değerlendirildi.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Oksitosin

Oksitosin, doğum sırasında vajina ve serviks genişlemesine neden olduğu için hızlı doğum anlamına gelen Yunanca'da oxys ve tokos kelimelerinden türetilmiştir. Sir Henry Dale tarafından ilk kez 1906 yılında arka hipofiz özütünün (ekstraktının) gebe kedilerde uterus kasılmalarını sağladığı gösterilmiştir. Vincent du Vigneaud tarafından 1953 yılında sentez edilmiş ve bu buluş 1955 yılında Nobel Ödülü almıştır. Amino asit dizilimi çıkarılan ve sentezi yapılan ilk peptid hormondur (Viero ve ark. 2010).

2.1.1. Oksitosinin Genel Özellikleri

Oksitosin, arka hipofizde hipotalamusun supraoptik ve paraventriküler çekirdeklerindeki magnoselüler nöronların aksonlarının ucundan salgılanır. Bu nöronlardan nörofizin aracılığı ile aksonal taşıma ile arka hipofize ulaşır, ardından kan dolaşımına geçer. Bu bölgeden çıkan aksonlar ayrıca nükleus akkübens'e gider. Öncül maddesi preprooksifizin olan oksitosin klasik bir nörohormon olması dışında santral sinir sisteminde nörotransmitter veya nöromodulator olarak da rol oynar. Etkilerini beyinde, omurilikte ve periferik dokularda yaygın dağılım gösteren reseptörleri (OT reseptörleri) aracılığı ile oluşturur (Gimpl ve Fahrenholz 2001). Dokuz amino asitten (sistein-tirozin-izolösin-glutamin-asparajin-sistein-prolin-lösin-glisin) oluşan oksitosin molkülünde, 1 ve 6 numaralı konumda yer alan sistein amino asitleri arasında disülfür köprüsü ve bir halka ile ona bağlı bir kuyruk kısmı bulunur. Ağızdan alındığında bağırsakta kimotripsin tarafından hidroliz edilerek etkisizleştirilir. Burun ve ağız mukozasından çabuk emilir. Plazma proteinlerine bağlanmadığından kanda serbest peptid olarak bulunur. Metabolitleri halinde böbreklerden atılır. Eliminasyon yarılanma ömrü 1-6 dakikadır (Kayaalp 2012 pp. 1273-1274).

2.1.2. Oksitosin Reseptörleri

Oksitosin reseptörleri G proteini (Gq) ile kenetlenmiş olarak hücre yüzeyinde bulunur. Uyarılmaları, membranda fosfotidil inozitol 4,5-bifosfatın hidrolizi ile inozitol trifosfat ve diaçilgliserol oluşumunu sağlar. Böylece, örneğin, düz kasta endoplazmik retikulumdan kalsiyum salıverilmesi ile kasılma ortaya çıkar. Oksitosin ayrıca vazopresin reseptörlerini de uyarır. Periferde reseptörlerin bulunduğu organ ve dokular; uterus, meme bezi, böbrek, over, testis, timus, kalp, endotel hücreleri, pankreas adacık

hücreleri, osteoklastlar ve adipositlerdir. Kanser hücreleri de oksitosin reseptörü içerir. Beyinde amigdala, lateral septum, stria terminalis, anterior singulat korteks, preoptik ve ventral tegmental bölge, hipokampus, nükleus akkübens, beyin sapı, suprakiazmatik çekirdek oksitosin reseptörleri içerir. Reseptör dağılımında türe ve cinsiyete göre farklılıklar bulunur. Dişilerde oksitosin ve reseptörlerinin ekspresyonu (ifadesi) daha yüksektir. Oksitosin mRNA ekspresyonunun olduğu beyin bölgeleri steroid duyarlı üreme davranışı, maternal davranış, öğrenme ve hafıza ile ilgili alanlardır. Ovaryum, uterus, plasenta, testis, böbrek medulası, timüs ve ön hipofiz gibi hipotalamus dışı dokularda da oksitosin ve/veya mRNA'sı bulunur (Gimpl ve Fahrenholz 2001; Viero ve ark. 2010; Katzung 2018 pp. 680-681).

2.1.3. Oksitosinin Salgılanması

Uterus ve vajinanın genişlemesi ve mekanik olarak uyarılması oksitosin salgılanmasına yol açar. Meme başı çevresindeki dokunma reseptörlerinin uyarılması da oksitosin salgılanmasını artırır. Afferent sinirler aracılığı ile periferden gelen uyarılar hipotalamustaki paraventriküler ve supraoptik çekirdeklerdeki oksitosin salgılayan nöronların somalarını uyararak oksitosin salgılanmasına yol açar. Bu etkiye beyindeki kolinerjik veya dopaminerjik yollar da aracılık eder. Korku ve endişe gibi psikojenik stres ve kanama da oksitosin salgılanmasını artırır. Oksitosin sinir uçlarında nörofizinin 1 ile bağlanmış olarak bulunur. Bu uçlarda met-enkefalin de depolanır, iki peptid birlikte salıverilir. Met-enkefalin bir geri besleme (feedback) mekanizması ile sinir ucundan oksitosin salıverilmesini baskılar. Morfin ve benzeri opiyatlar da aynı etkiyi gösterir. Çok şiddetli ağrı ve vücut sıcaklığının artması beyindeki opioidlerjik sistem aracılığı ile oksitosin salgılanmasını azaltır. Oksitosin plazmada saptanabilir düzeydedir (1-10 pg/ml); ovülasyon (yumurtlama), doğum eylemi, laktasyon (süt verme) ve bazı stres durumlarında plazma düzeyi artış gösterir. Gebelik sırasında kan düzeyi giderek artar, doğum eylemi başladıktan sonra salgılanmanın daha da artması ile kan düzeyi yükselir, doğumdan sonra sıfıra düşer. Etanol hipofizden oksitosin salgılanmasını önleyerek, indometasin de uterus prostaglandin sentezini baskılayarak kasılmaları önler. Lohusalarda meme başının emilmesi veya mekanik olarak uyarılması oksitosin salgılanmasına yol açar ve plazma düzeyi kısa bir süre için artar. Böylece emziren kadınlarda sütün boşalması sağlanır, artan prolaktin salgılanması da eyleme katkıda

bulunur (Kayaalp 2012 pp. 1274-1275; Yeğen ve ark. 2017 pp. 948-949; Katzung 2018 pp. 680-681).

2.1.4. Oksitosinin Etkileri

Oksitosinin periferik etkilerinin başında uterus düz kasının kasılma gücünü ve sıklığını artırması gelir. Bu etki için ortamda yeterli miktarda estrogen bulunmalıdır. Gebelik sırasında artan estrogen miktarı oksitosine duyarlılığı artırır. Oksitosin meme bezinin salgı yapan epitel hücrelerinden oluşan alveollerinin çevresindeki myoepiteliyal hücrelerini kasar, sütün duktuslara ve duktuslar üzerindeki sinüslara geçmesini ve hafif bir emme ile dışarı atılmasını sağlar. İnsanlarda ve deney hayvanlarında vazodilatör etki ile kan basıncını düşürür. İnsanlarda yeterli dozda verildiğinde sistolik ve özellikle diyastolik kan basıncını düşürür; deri ve ekstremitelerden geçen kan akımını artırır. Kalp debisinde artışa ve taşikardiye yol açar. Vazopresin V_1 reseptörleri aracılığı ile kan kan basıncını düşürür, V_2 reseptörleri aracılığı ile böbrek toplayıcı kanallarında antidiüretik etki gösterir (Kayaalp 2012 pp. 1274-1276; Katzung 2018 pp. 680-681).

Oksitosin beyinde ön hipofizden adrenokortikotropik hormon (ACTH) ve prolaktin salgılanmasını artırır (Gibbs, 1986; Kennett ve McKee 2012). Annelik (maternal), eş tercihi ve eşe bağlanma davranışlarını oluşturur (Ross ve Young 2009). Gebelikte ve doğum sonrasında ventral septum, paraventriküler nükleus ve supraoptik nükleusta oksitosin ekspresyonu artar. Ventral tegmental alandaki dopaminerjik nöronların uyarılması ile nükleus akkumbens'ten dopamin salıverilmesi annelik davranışları üzerinde güçlendirici etki sağlar (Gimpl ve Fahrenholz 2001). Etkileşim, sosyal davranış, arkadaşlık, bağlanma, üreme ve beslenmedeki rolü nedeni ile oksitosine “yaşamın büyük fasilitatörü” adı verilmiş (Lee ve ark. 2018) ve bu eylemlere dayanılarak beyinde “oksitosinerjik sistem” tanımı yapılmıştır (Lima ve Rodrigues 2018). Oksitosinin deney hayvanlarında çeşitli öğrenme testlerinde belleğin pekiştirilmesini artırdığı gösterilmiş (Viero ve ark 2010), strese yanıtı ACTH ve kortizol salgılanmasını azaltarak iyileştirebileceği, bu etkinin doğum sonrası depresyonunda tedavi edici etkinlik sağlayabileceği öne sürülmüştür (Boutet ve ark. 2006). Santral ve periferik oksitosin uygulamalarında ağrı eşiğinde yükselme saptanmıştır (Yang 1994). Hipotalamusun paraventriküler çekirdeğinin elektriksel uyarılması ile omurilikte oksitosin salıverilmesi (hipotalamo-spinal oksitosinerjik yolak) veya omuriliğe doğrudan oksitosin uygulanması analjezik etki oluşturur (Condes-Lara ve ark. 2006).

Oksitosin vücut sıcaklığında düşmeye (Hicks ve ark. 2014) ve iştah azaltıcı etki ile ağırlık kaybına (Arletti ve ark. 1989) yol açar. Endojen oksitosinin opiyat bağımlılığı sürecinde nöroadaptasyonda düzenleyici rol oynadığı öne sürülmüştür (Kovacs ve ark. 1998). Deney hayvanlarında morfinin ve beta endorfinin analjezik etkisine akut ve kronik tolerans gelişimini azalttığı, morfine bağımlı hayvanlarda nalokson yoksunluk semptomlarını hafiflettiği, yoksunlukta hipokampus ve bazal ön beyinde düzeyinin arttığı gösterilmiştir (Brown ve ark. 2004). Kronik morfin verilen farelerde beyinde oksitosin reseptörlerinin bağlanma miktarında ve oksitosin düzeylerinde azalma saptanmış ve kesilme sonrası yoksunluk döneminde karbetosinin yoksunluk belirtilerini ve morfin arama davranışını azalttığı gösterilmiştir (Zanos ve ark. 2014).

Oksitosin doğum eyleminin başlatılmasında kullanılır. Son yıllarda burun içi uygulama ile otizm ve obezite gibi bozukluklarda denenmektedir. Oksitosin reseptörlerinde antagonist etki gösteren atosiban erken doğumun önlenmesinde, oksitosin reseptör agonisti karbetosin de uzun yarılanma ömrü ile deneysel çalışmalarda oksitosin yerine kullanılmaktadır (Katzung 2018 p. 681).

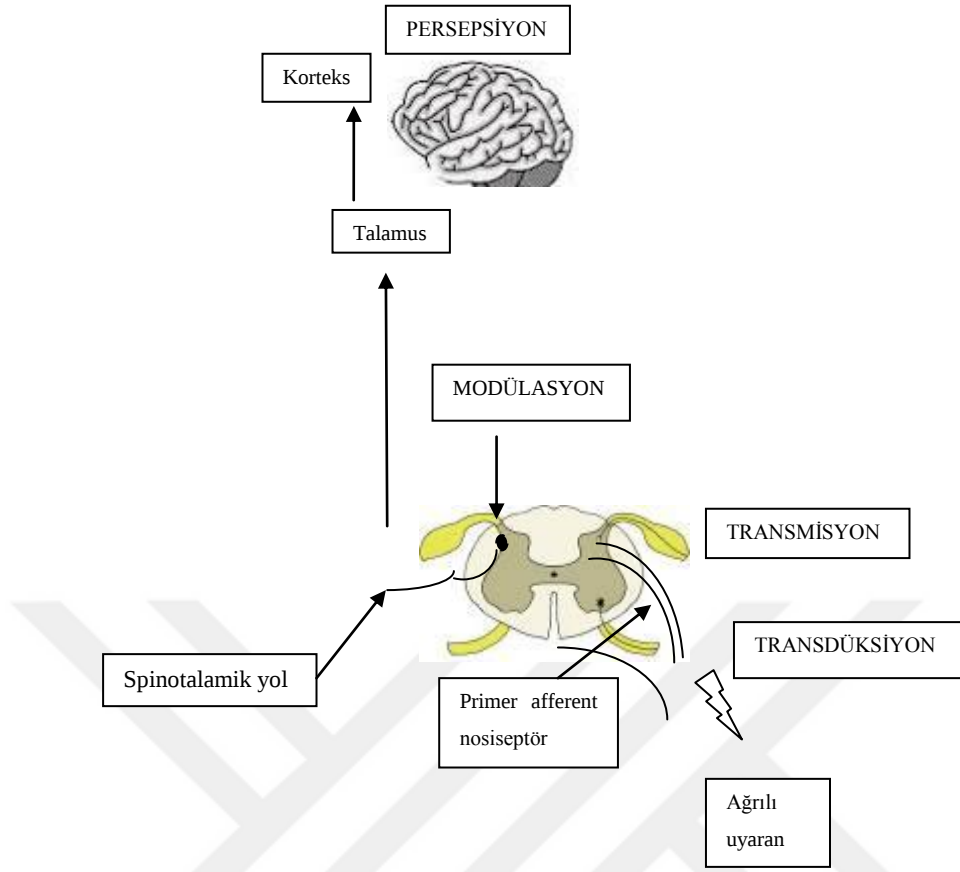
2.2. Ağrı

Ağrı, hastalık, yaralanma ve benzeri nedenler ile vücudun herhangi bir yerinde ortaya çıkan acı olarak tanımlanmıştır. Nosisepsiyon ağrının algılanması, nosiseptif ağrı doku zedelenmesine bağlı olarak ortaya çıkan durumdur. Nosiseptör, ağrı algısından sorumlu, dokuda tehdit oluşturan veya oluşmuş bir yaralanmaya tepki gösteren reseptörlere verilen addır. Santral ve periferik sinir sisteminin zedelenmesi sonucu ortaya çıkan kronik ağrıya nöropati denir. Kaynaklandığı bölgeye göre ağrı, somatik veya visseral ağrı olarak ortaya çıkar. Somatik ağrı yüzeysel ve derin ağrı olarak algılanır. Ani başlar, keskindir ve tanısı kolaydır. Visseral ağrı ise iç organlardan kaynaklanır, başka bölgelere yayılabilir. Motor ve bulantı, kusma gibi otonom refleksler ile birlikte görülür, yansıma şeklinde algılanır. Projekte ağrı; bir ağrı yolu içindeki liflerin doğrudan uyarılması sonucu oluşur. Psikojenik ağrı ise ağrıyı açıklayabilecek bir neden yokluğunda ortaya çıkan yakınmalardır veya var olan hasarlanmaya göre şiddet ve süre bakımından orantısız derecede abartılmış bir ağrıdır. Analjezikler, ağrı gidericiler, psikojenik ağrıda etkili değildir. Nosiseptif ağrı; sadece doku hasarına bağlı olarak ortaya çıkan, kas, deri, bağ dokusu ve iç organlarda yaygın olarak bulunan ve nosiseptörlerin uyarılması ile meydana gelen somatik veya visseral ağrıdır. Periferik ve

santral sinir sisteminde ağrı yolları üzerindeki sinir lifleri veya nöronlardaki bozukluğa bağlı ağrıya “deafferantasyon” ağrısı denir. Akut ağrı her zaman nosiseptif niteliktedir: Travma, infeksiyon, doku hipoksisi ve inflamasyon gibi nedenler ile ortaya çıkar, uyaran ortadan kalktığında sonlanır. Kronik ağrı sabit veya aralıklı olarak tekrarlar, uzun sürelidir ve çoğunlukla nosiseptif niteliktedir. Ağrı şiddetine göre; ani başlayan, kıvrandıracak kadar şiddetli olan, zaman zaman azalıp kaybolan kolik ağrı, şiddeti daha az olan, sızı olarak tanımlanan künt ağrı veya dayanılmayacak kadar şiddetli, sürekli algılanan kemirici ağrı şeklinde ortaya çıkar (Kayaalp 2012 p. 826; Yeğen ve ark. 2017 p. 621).

2.2.1. Ağrı Mekanizmaları ve İletimi

Ağrı reseptörleri, nosiseptörler, deri ve deri altı dokularında bulunan somatik duyuşal liflerin çıplak, serbest uçlarıdır. Normal koşullarda termal (ısı), mekanik ve kimyasal uyaranlar ile uyarılır. Klinikte ise ağrılı uyaran, uzamış travmaya ve doku zedelenmesine bağlıdır. Ağrılı uyaranın üst merkezlere taşınması aşamalarını (Şekil 2-1); ağrı uyaranını oluşturan enerjinin başka bir enerjiye dönüşmesi (transdüksiyon), nosiseptörler aracılığı ile ağrılı uyaranın sinir lifleri ile iletilmesi (transmisyon), omurilik düzeyinde ağrılı uyaranın değişime uğraması ve daha üst merkezlere iletilmesi (modülasyon) ve çeşitli çıkıcı yollar aracılığı ile omurilikten üst merkezlere iletilen ağrının algılanması (persepsiyon) oluşturur.



Şekil 3.6.2.1: Ağrılı uyaranların periferden omurilik ve üst merkezlere iletilmesi-Babacan (2011)'dan

Ağrı uyaranları omuriliğe A-delta tipi miyelinli veya C tipi miyelinsiz lifler ile iletilir. A-delta lifler hızlı-keskin ağrı yolunu ve C tipi lifler yavaş-kronik ağrı yolunu oluşturur. Hızlı-keskin uyarılar mekanik veya termal uyarılar ile oluşur; nosiseptörlerin uyarılması keskin, iğneleyici ve yeri saptanabilen ağrı oluşturur. Yavaş-kronik tipteki ağrı ise özellikle kimyasal uyarılara bağlıdır. Mekanik ve termal uyarılar ile de ortaya çıkabilir. Hasarlanmış veya inflamasyon oluşmuş dokudaki duysal sinir sonlanmaları açığa çıkan pek çok kimyasal madde (H^+ , ATP, glutamat, serotonin, histamin, bradikinin) ile doğrudan uyarılır veya prostaglandinler, prostasiklinler, sitokinler ve tümör nekroz faktörü gibi etkenler tarafından daha duyarlı duruma getirilir (Yeğen ve ark. 2017 pp. 622-623).

Ağrı uyaranları dokulardan A-delta ve C grubu duysal sinir lifleri içinde omuriliğin arka boynuzundaki substantia gelatinosa'da birinci nörondan ikinci nöronlara taşınır. Bu aşırının sinir lifleri ucundan açığa çıkan P maddesi ve benzeri nörokininler veya glutamat tarafından yapıldığına inanılmaktadır. Omurilik düzeyinde ağrı ile ilgili üçüncü oluşum olan enkefalinergic ara nöronlar, supraspinal inisiyasyon

tarafından uyarılır ve pre- veya postsinaptik inhibisyon yaparak birinci nöronun ikinci nörona uyarımını aşımını baskı altında tutarlar. İkinci ağrı nöronu karşı tarafa geçerek ağrı uyarılarını taşıyan neo-spinotalamik yolak ve paleo-spinotalamik yolları oluşturur. Ağrının yer, şiddet ve zaman gibi ayırt ettirici boyutları ile algılanmasını sağlayan neo-spinotalamik yolaktaki liflerin az bir bölümü beyin sapının retiküler bölgelerinde sonlanır, çoğu talamusa kadar gider. Ağrının afektif ve otonomik unsurları eşliğinde oluşmasında modülatör rol oynayan paleo-spinotalamik yol ise özellikle yavaş-kronik tip C lifleri tarafından taşınan ağrı uyarılarını beyne iletir. Yolu oluşturan liflerin bir bölümü (1/10-1/4'ü) talamusa gider, diğerleri medulla, pons ve mezensefalonun retiküler çekirdeklerinde ve inferior ve superior kolliküllerinin derininde bulunan tektal alanlarda ve Sylvius yarığının çevresinde, periakvaduktal gri bölgede sonlanır (Kayaalp 2012 pp. 827-828). Bu alanlardan çıkan nöronlar iletiyi raphe magnus çekirdeği ve nükleus retikularis paragigantoselularise ve oradan da omuriliğin arka yan boynuzunda bulunan ağrı baskılama kompleksine gönderir. Böylece ağrı beyne iltimeden önce bu aşamada engellenebilir. Periventriküler çekirdekler ve periakvaduktal gri maddeden çıkan pek çok sinirin ucundan ve raphe magnus çekirdeğinde sonlanan liflerin çoğundan enkefalin salıverilir. Bu çekirdekten köken alan ve omuriliğin arka boynuzlarında sonlanan lifler, serotonin salıverilmesine, serotonin de omurilikteki ara nöronlardan enkefalin salıverilmesine yol açar. Omurilikte alfa-2 adrenerjik reseptörlerin uyarılması, nosiseptif primer afferent sinir uçlarından P maddesi ve glutamat gibi nörotransmitterlerin salıverilmesini azaltarak ve arka boynuzda yukarı çıkan nöronlarda hiperpolarizasyona yol açarak ağrı iletimini azaltır (Kuraishi ve ark. 1985; Li ve Eisenach 2001). Locus coeruleus'taki alfa-2 adrenerjik reseptörlerin uyarılması da omuriliğe giden ağrı modülasyonunu sağlayan inisi noradrenerjik yolağı baskılar (Nguyen ve ark. 2017).

2.3. Deneysel Nosisepsiyon Testleri ve Ağrı Modelleri

Nosiseptif yanıt ve ağrı ile ilgili deneysel çalışmalarda daha çok fare ve sıçan kullanılır. Uyarılara karşı oluşan ses çıkarma, kuyruk çekme, tırmanma, kaçma, saldırma, defekasyon (dışkılama), kan basıncındaki yükselme, yeme davranışı, taşikardi gibi değişiklikler gözlemlenerek ağrı değerlendirilir. Araştırmalarda; hayvanların belirli bir süre önce deney ortamına alınması, elle tutulmaya alıştırılması, yaşlarının, cinsiyetlerinin ve soylarının aynı olması, standart koşullarda barındırılmaları gibi deney

sonucunu etkileyebilecek etkenler göz önünde bulundurulur. Uyarının tipi (ısı, ışık, kimyasal, fiziksel vb.), şiddeti, uygulama sıklığı ve deneyin sonlandırma ölçütleri de etik kurallara uygun olarak belirlenir.

Deneyisel model, test ve yöntemler, akut ağrı, kronik ağrı ve nöropatik ağrıya göre değişiklik gösterir. Kuyruk çekme testi, kuyruk daldırma testi, pençe çekme testi ve kızgın levha testi gibi spinal/supraspinal reflekslerin ölçümüne dayanır. Poliartrit modelleri, visseral ağrı modelleri, kimyasal uyarılar ile oluşturulan genel inflamasyon modelleri, kimyasal uyarı ile oluşturulan asetik asit kıvrınma testi ve formalin testi, mekanik ve elektriksel uyarı ile oluşturulan vokalizasyon (ses çıkartma) testi ağrı ölçüm yöntemlerine diğer örnekleri oluşturur. Akut ağrı için kızgın levha, kronik ağrı için formalin testi ve nöropatik ağrı için sinir bağlanmasına örnek test veya modellerdir. Ağrının oluşumunu aydınlatma ve analjezik etkinlik tarama amaçlı araştırmalarda sık kullanılırlar. Çalışmalarda en çok kullanılan, kolay uygulanabilen testlerin başında kuyruk çekme veya ayak çekme/pençe yalama davranışını değerlendiren kuyruk çekme ve kızgın levha testleri gelir (Bannon ve Malmberg 2007; Barrot 2012).

Kuyruk çekme testi (tail flick) daha çok spinal nosiseptif refleksin değerlendirilmesinde kullanılır. Bu testte bir lambadan gelen şiddeti ayarlanabilir odaklanmış ışığa karşı hayvanın kuyruğunu çekme yanıtı değerlendirilir. Kuyrukta önemli, kalıcı bir hasar meydana gelmemesi için genellikle 15 saniyelik bir kesme süresi belirlenir. Bireysel farklılık fazla değildir. Deneyin sonuçlarını değiştirecek tüm değişkenlerin sabitlenmesi, bazal kuyruk deri sıcaklığı önemlidir. Kuyruk deri sıcaklığında saptanan artış, çekme süresini kısaltabilir ve bu da hiperaljezi olarak yorumlanabilir. Çevre, elle tutma, enjeksiyon gibi stres oluşturacak durumlar kuyruk sıcaklığını etkileyebilir (Bannon ve Malmberg 2007; Barrot 2012).

Kuyruk daldırma (tail immersiyon) testi de spinal reflekslerin ölçümünde kullanılır. Fare veya sıçanın kuyruğu sabitlenerek yaklaşık 52°C'de sabit tutulan suya (veya 0°C'nin altında sıvı olarak kalabilen herhangi bir çözeltiye) batırılır. Kuyruğun çekilme süresi ağrı eşiğini belirler. Doku hasarını önlemek için kesme süresi 10-30 saniye arasında belirlenir. Kuyruk çekme testinden en büyük farkı ve üstünlüğü düşük ısıda da çalışılabildiğinden analjezi potansiyeli düşük olan maddeler için de kullanılabilir olmasıdır (Hepburn ve ark. 1997; Bannon ve Malmberg 2007; Barrot 2012).

Kızgın levha (hot plate) testi ise daha çok supraspinal reflekslerin ölçümüne dayanır. Alet 50-56°C'ye kadar elektrik ile ısıtılmış bakır veya alüminyum bir yüzeyden oluşur. Hayvanın ısıtılan yüzey üzerinde belirli bir bölgede kalması için hareket kabiliyetini sınırlamayacak büyüklükte cam veya pleksiglas silindir kaplar kullanılır. Isıtılmış yüzeye bırakılmasından hayvanın arka ayağını çekmesine veya pençesini yalamasına kadar olan süre ölçülür. Hayvanın ağrıyı algılama ölçütleri çeşitlilik gösterdiğinden (pençe yalama, ayak çekme, sıçrama, kaçma vb.) hangi davranışın ağrı belirtisi olarak kabul edileceği sorun oluşturabilmektedir. Buna karşın literatürlerde en çok kullanılan yöntemler arasında yer alır. Doku hasarına neden olmamak için test 50 saniyeden fazla uygulanmamalıdır (Bannon ve Malmberg 2007; Barrot 2012; Morgan ve ark. 2014).

2.4. Vücut Sıcaklığının Düzenlenmesi

Vücut sıcaklığı ısı kaybına karşı ısı üretimi ile dengelenerek kontrol edilir. Vücudun iç sıcaklığı (derin dokuların sıcaklığı) hemen hemen sabittir. Deri sıcaklığı ise çevre sıcaklığına bağlıdır, artış veya azalma gösterir. Normal iç sıcaklık ağızdan veya rektumdan ölçülmesine göre değişir. Ağızdan ölçüldüğünde 36,7°C ile 37°C arasındadır. Rektumdan ölçüldüğünde bu değerlere göre 0,6°C daha yüksektir. Ağır egzersizde aşırı miktarda ısı oluşumuna bağlı olarak vücut sıcaklığı 38-40°C'ye kadar çıkabilir. Soğuğa maruz kalındığında sıcaklık 35,5°C'nin altına düşebilir. Isı üretimi ve ısı kaybı arasındaki denge ve düzenleyici mekanizmalar aracılığı ile vücut sıcaklığı kontrol altında tutulur. Metabolizma olayları sırasında yan ürün olarak ısı üretimi ortaya çıkar. Isı üretim hızını belirleyen etkenler arasında hücrelerin bazal metabolizma hızları, kas aktivitesine bağlı metabolizma hızında artma ve titremenin etkisi, tiroksin, büyüme hormonu ve testosteron gibi hormonların ve sempatik uyarılmanın etkisi ile hücrelerde metabolizmanın artması ve besinlerin sindirimi, emilimi ve depolanması için gerekli olan ek metabolizma yer alır (Yeğen ve ark. 2017 pp. 911-914).

Vücut sıcaklığı sinirsel geribildirim mekanizması ile düzenlenir. Bu mekanizma hipotalamustaki sıcaklık düzenleme merkezlerinde ayarlanır. Ön hipotalamus-preoptik alanda çok sayıda sığa duyarlı nöronun yanısıra onların 1/3'ü kadar soğuğa duyarlı nöron bulunduğu gösterilmiştir. Bu nöronların sıcaklık reseptörleri gibi işlev yaparak vücut sıcaklığının kontrolünü sağladıklarına inanılmaktadır. Vücut sıcaklığının yükselmesi sığa duyarlı nöronların deşarjını, düşmesi soğuğa duyarlı nöronların

deşarjını artırır. Preoptik alanın ısıtılması deride hızlı ve çok miktarda terlemeye ve vücut yüzeyindeki kan damarlarında genişlemeye yol açar. Böylece vücut sıcaklığı normale döner. Bu alan bir termostatik vücut sıcaklığı kontrol merkezi gibi işlev gösterir. Deride sıcaklık ve daha çok olmak üzere soğuk reseptörleri bulunur. Üşümede refleks olarak titreme ile ısı oluşum hızı artar, varsa terleme baskılanır ve damarlarda büzüşme ile deriden ısı kaybı azalır. Omurilik, karın organları ve abdomenin üst kısmında ve toraksta bulunan büyük venlerin içinde veya etrafında derin vücut sıcaklık reseptörleri bulunur. Posterior hipotalamusta santral ve periferik sıcaklık duyuşal uyarıları bütünleşir. Ön hipotalamustaki preoptik alandandan gelen arka hipotalamusa iletilen sıcaklık uyarıları burada periferden gelen uyarılar ile birleştirilerek ısı oluşturan ve ısı koruyan reaksiyonlar düzenlenir. Sempatik uyarı veya dolaşımdaki adrenalin ve noradrenalin hücre metabolizma hızını hızla artırır. Bu etkiye kimyasal termojenez (titremeye bağılı olmayan termojenez) denir. Preoptik alanda bulunan termoregülatör merkezin mikroorganizmaların salgıladıkları sitokin özellikli pirojen maddeler tarafından uyarılması vücut ısısının yükselmesine yol açar (Yeğen ve ark. 2017 pp. 916). Adenozin (Fredholm ve ark. 2011), histamin (Panula ve ark. 2000) ve noradrenalin (Brück ve Zeisberger 1987) ısı düzenleme mekanizmasında rol oynayan nörotransmitterlerdir.

2.5. Bağımlılık ve Tolerans Oluşumu

Bazı droglara veya maddelere karşı gelişen bağımlılık önemli bir sağlık sorunudur. Dünya Sağlık Örgütü'ne göre psikotrop bir madde ile santral sinir sistemi arasındaki etkileşmeden doğar. Maddenin keyif artırıcı psişik etkilerini duyumsamak, yokluğunun vereceği huzursuzluktan sakınmak için devamlı veya dönemsel olarak alma dürtüsü veya kompülsiyon (zorlantı) başta olmak üzere çeşitli davranışsal ve diğer tepkilerin eşlik ettiği psişik, bazen ek olarak fiziksel nitelikli bir durumdur. Bağımlılık yapan maddelerin pekiştirici olmaları ortak özellikleridir. Bir maddenin ruhsal durumda ve davranışta yaptığı farmakolojik etkinin (örneğin keyif artması) tekrar kullanmaya teşvik etmesine pozitif pekiştirici etki denir. Bu etkiyi yapan maddeler (drog veya alkol ve diğerleri) ventral tegmental alanı yerel olarak veya raphe nöronları aracılığı ile uyarır; uyarı nükleus akkübens'in kabuk bölgesindeki amigdala'daki dopaminerjik akson uçlarından madde bağımlılığında ödül mekanizmasında önemli rol oynayan dopamin salıverilmesini artırır. Madde alınmadığında ortaya çıkan yoksunluk

tablosundan kaçınmak için almaya devam etme negatif pekiştirici etkidir. Madde kullanımının kesilmesi ile ortaya çıkan yoksunluk (abstinens) sendromu, eroin, morfin ve diğer opioidler, kokain, alkol ve hipnotikler gibi santral sinir sistemi depresanlarına bağımlı olanlarda belirgin ve ciddi belirtiler ile kendini gösterir (Kayaalp 2012 pp. 846-848). Bir maddenin pozitif pekiştirici yapıp yapmadığı, deney hayvanlarında tanımlanan hayvan modellerinde kendine verme (self-administration) deneyleri ile ortaya konulabilir (Mierzejewski ve ark. 2003).

Madde bağımlılığı fiziksel ve psişik bağımlılık olmak üzere 2 şekilde ortaya çıkar. Fiziksel bağımlılık; maddenin etkilediği nöronların maddeye bir süre devamlı maruz kalması sonucunda madde kesilmediği sürece belirtileri bastırılmış olarak kalan ve bu nedenle farkedilmeyen, madde kesildiğinde veya bir antagonist verildiğinde yoksunluk sendromu ile beliren nöroadaptasyon durumudur. Maddenin, kısa veya uzun bir süre boyunca vücutta bulunması, beyinde etkilediği hedef nöronlardaki reseptörlerde, reseptöre kenetli efektör moleküllerde, reseptör sonrası olayların diğer basamaklarında ve doğrudan hedef nöronlar ile ilişkili nöronlarda veya onların işlevini kontrol eden nöronların oluşturduğu diğer sistemlerde değişikliklere yol açar. Değişiklikler, dopaminerjik, serotonerjik, noradrenerjik, opioidderjik, GABA'erjik, glutamaterjik ve nitreerjik sistemler gibi önemli nörotransmitter sistemlerini kapsar. Fiziksel bağımlılığın gelişme süresi bağımlılık yapan drog veya madde gruplarına göre değişir. Örneğin opioid analjeziklere karşı erken, alkole karşı geç oluşur. Bağımlılığın derecesi ve yoksunluk sendromunun şiddeti, kullanma süresi ve günlük doz ile orantılı olarak artar. Psişik bağımlılık maddenin pozitif pekiştirici etki yapmasına bağlı olup almaya devam etme arzusu (özlemi) ile kendini gösterir. Bütün madde bağımlılığı olgularında bulunan temel öğedir. Psişik bağımlılığın derecesi de drog veya madde gruplarına ve belirli bir grup içindeki farklı üyelere göre değişir. Örneğin, eroinin psişik bağımlılık oluşturma gücü ve potansiyeli morfine, morfinin de kodeine göre daha fazladır (Kayaalp 2012 pp. 851-853).

Bağımlılık yapan maddelerin bir bölümünün ortak özelliği tolerans oluşturmalarıdır. Maddenin tekrarlanan dozlarda bir süre alınması, başlangıçtaki keyif verici etkinin giderek azalmasına ve etki süresinin kısalmasına yol açar. Etki azalmasını önlemek için giderek doz artırılır. Kesintili kullanım yani maddeye aralıklı olarak maruz kalma tolerans gelişimini önler. Tolerans, doğuştan veya kazanılmış olabilir. Doğuştan

tolerans; genetik polimorfizm sonucu drogun/maddenin dağılımının veya eliminasyonunun hızlanmış olmasına veya etkilediği reseptör veya reseptör sonrası olayların duyarlılığının ve veriminin düşük olmasına bağlıdır. Kazanılmış tolerans 3 şekilde ortaya çıkabilir. Farmakokinetik tolerans, drogun tekrarlayan dozlarda sürekli verilmesi ile metabolizmasının artmasına, kan düzeyinin düşmesine ve etki yerindeki miktarının azalmasına bağlıdır. Farmakodinamik tolerans, hücrenin ve reseptörlerin droga sürekli maruz kalmasına bağlı olarak gelişen bir hücresel uyum durumudur. Reseptörlerin sayısı ve/veya duyarlılığı ve diğer hücre içi yapıların yanıt verme yeteneği giderek azalır. Öğrenilmiş tolerans bir davranışsal tolerans durumudur. Drogun etkisine karşı kazanılan deneyim sonucu etkiye zıt yönde çalışan karşılayıcı/dengeleyici (kompensatuvar) mekanizmaların giderek daha fazla etkinlik kazanmasına bağlı olarak gelişir. Maddenin uygulandığı yerin durumu ve görünüşü gibi yakın çevresel koşulların öğrenilmesi ve madde alma beklentisinin oluşması durumuna ise koşullandırılmış tolerans denir. Madde verilmesi öncesi beklenti, maddenin yapacağı etkiyi tamponlamaya yönelik zıt yönlü savunma mekanizmalarını tetikler. Böylece etki azalır veya kaybolur. Aynı farmakolojik grupta bulunan droglardan birine karşı oluşan toleransın diğer droglara karşı da ortaya çıkmasına çapraz tolerans denir. Bağımlılık yapan maddelere karşı oluşan tolerans tam veya kısmidir, yani tüm etkilere karşı gelişir veya bazı etkilere karşı geliştiği halde bazılarına karşı gelişmez veya çok az gelişir (Kayaalp 2012 pp. 853-855; Katzung 2018 p. 559).

2.6. Morfin

Morfin ilk kez 1817 yılında Eczacı Sertürner tarafından afyon özütünden elde edilmiştir. Hidroklorür veya sülfat tuzu şeklinde kas içine veya deri altına enjeksiyon ile uygulanır. Bu uygulamalarda analjezik etkisi 20 dakikada başlar, 45-90 dakikada doruğa ulaşır ve 4-6 saat kadar devam eder. Ven içi uygulandığında etki 1-2 dakika içinde başlar, 10-20 dakikada doruğa erişir ve kısa sürer. Ağız yolundan alındığında mide-barsak kanalından tam olarak emilir. Emilen miktarın büyük bölümü karaciğerden ilk geçişte eliminasyona uğrar; bu nedenle biyoyararlanımı düşüktür (Osborne ve ark. 1990). Parenteral dozun yaptığı etkiye eşit etki oluşturmak için ağız yolundan daha yüksek dozda (diğer yollara göre 3-10 katı) verilmesi gerekir. Plazma proteinlerine %25-35 oranında bağlanır. Karaciğerde yaklaşık 2/3 kadarı morfin-3-glukuronata, az bir bölümü morfin-6-glukuronata dönüşür (DePriest ve ark. 2015). Morfin-6-glukuronatın

mü reseptörlerine ilgisi morfin eşdeğerdir (Mignat ve ark. 1995). Bu metabolitler böbreklerden atılır. Morfinin eliminasyon yarılanma ömrü 1,8-5 saat arasında değişir. En önemli etkisi ağrıyı azaltmasıdır. Hastanın endişe, kaygı ve ruhi gerginliğini de azaltır veya ortadan kaldırarak, sakinleştirici etki gösterir. Aynı zamanda zihinsel işlevlerde ve hareketlerde azalma, hareket etmeye karşı isteksizlik ve çevreye karşı ilgisizlik yapar. Yüksek dozlarda konvülsiyon yapıcı etkisi vardır. En önemli istenmeyen etkisi solunum merkezinin baskılanmasıdır. Solunumun hem hızını hem derinliğini azaltır. Bulbustaki öksürük merkezini baskılar, güçlü öksürük kesici etki gösterir. Ancak kötüye kullanılabilirdiğinden bu amaçla kullanımı yoktur. Bulantı ve kusma yapar, göz bebeğini küçültür, yüksek dozda kan basıncında düşmeye, kalp atım sayısında azalmaya neden olur. Hipotalamusta ısı düzenleme merkezini etkileyerek vücut sıcaklığını düşürür. Hipotalamusu etkileyerek hipofizden antidiüretik hormon, prolaktin ve somatotrop hormon salgılanmasını uyarır, ACTH salgılanmasını baskılar. Ayrıca adrenal medulladan katekolamin salıverilmesini artırır. Bu etkiye bağlı olarak plazma katekolamin düzeyini yükseltir ve kan glukoz düzeyini artırabilir. Mide-bağırsak kanalında mü ve kappa reseptörleri aracılığı ile ağızda kuruma, midede hidroklorik asit salgılanmasında ve motilitede azalma yapar. Mide ve ince bağırsakta tonusu artırır. İtici peristaltik hareketleri baskılayarak kabızlığa yol açar. Anal sfinkterin tonusunu artırır. Oddi sfinkteri ve safra kanallarında spazm yaparak safra basıncını artırır, safra koliği yapabilir. Safra ve pankreas salgılarını azaltır. Mesanede sfinkter ve detrusor kasları büzer, işeme güçlüğü ve idrar retansiyonu yapabilir (Kayaalp 2012 pp. 831-835; Katzung 2018 pp. 559-562).

Morfin hem spinal hem de supraspinal düzeyde ağrı yollarını etkiler. Spinal düzeyde, omuriliğin arka boynuzundaki birinci ağrı nöronu ve ikinci nöron arasındaki sinapsta etki gösterir. Bu sinapsta özellikle mü reseptörlerini uyararak presinaptik inhibisyon yapar. Supraspinal analjeziye de beyin sapı düzeyinde aynı reseptörler aracılık eder (Kayaalp 2012 p. 828; Katzung 2018 pp. 556-559).

2.6.1. Morfin Bağımlılığı ve Toleransı

Morfin ve diğer opioidler endojen opioidlerin (metenkefalin, lösin enkefalin, dinorfin ve beta endorfin) mü (μ), kappa (κ) ve delta (δ) reseptörlerini uyararak etki oluşturur. Mü reseptörleri, opioidlerin analjezik etkilerinin çoğundan ve solunum depresyonu, öfori, sedasyon, bağımlılık gibi etkilerinden sorumludur. Delta reseptörleri

de analjeziye katkıda bulunurlar, ancak bağımlılıkta roloynamazlar. Kappa reseptörleri spinal analjeziye katkıda bulunur, bağımlılıkta az etkinlik gösterirler. Morfin mü reseptörleri üzerinde güçlü, kappa reseptörleri üzerinde zayıf agonist etki yapar (Kayaalp 2012 p. 829; Katzung 2018 p. 553).

Uzun süreli morfin uygulamasında psişik ve fiziksel bağımlılık gelişir. Yoksunluk veya kesilme sendromunda; rinore (burun akıntısı), lakrimasyon (göz yaşarması), esneme, üşüme, kaz derisi görünümü (piloereksiyon), hızlı ve derin soluma, vücut sıcaklığında artış, göz bebeğinde büyüme, kas ağrıları, kusma, ishal, kaygı ve düşmanca davranışlar gibi belirtiler görülür. Belirti ve semptomların sayısı ve şiddeti büyük oranda fiziksel bağımlılığın derecesini yansıtır. Yoksunluk genellikle son dozdan sonraki 6-10 saat içinde başlar, 36-48 saat sonra doruğa ulaşır, ardından belirti ve semptomlar azalmaya başlar.

Morfinin olağan dozlarda devamlı uygulanması sonucu analjezik etkisine farmakodinamik tolerans gelişir. Tolerans etkinin azalmasına yol açtığından başlangıçtaki etkiyi elde edebilmek için dozun artırılması gerekir. Morfine tolerans gelişen bir kimsede diğer narkotik analjeziklere karşı da tolerans vardır. Tolerans, sakinleştirici, solunumu baskılayıcı, idrara çıkmayı azaltıcı, bulantı ve kusma yapıcı ve kan basıncını düşürücü etkilere karşı gelişirken göz bebeğini küçültücü, konvülsan ve kabızlık yapıcı etkilere karşı oluşmaz. Uzun süre (kronik) morfin verilen fare ve sıçanlarda analjezik ve hipotermik etkilere karşı tolerans gelişimini değerlendirmek için etkinin zaman bağılı değişimi izlenir. Tekrarlayan ölçümlerde etkinin giderek azalması toleransın göstergesi olarak kabul edilir (Smith ve ark. 2006; Yuill ve ark. 2016). Bir diğer yöntem morfin “challenge” (meydan okuma, sataşma) yapılmasıdır. Yaygın olarak kullanılır (Smith ve ark. 2006; Chavooshi ve ark. 2009; Lilius ve ark. 2009; Kang ve ark. 2011). Tekrarlayan morfin uygulamasında toleransın değerlendirileceği gün ek olarak tek doz (akut) morfin verildiğinde kontrol hayvanlarına göre morfin verilen hayvanlarda daha az analjezik yanıtın ortaya çıkması toleransın kanıtı olarak değerlendirilir.

Morfin bağımlılığı ve toleransının altta yatan başlıca mekanizmaları arasında mü opioidergik reseptörler ile ilgili değişiklikler (Garzón ve ark. 2012; Bao ve ark. 2015; Mann ve ark. 2015), glutamaterjik reseptörler ile ilgili değişiklikler (Koyuncuoğlu ve

ark. 1999; Siggins ve ark. 2003) ve beyin ödöl devrelerinde ortaya çıkan değişiklikler (Kim ve ark. 2016) yer alır.

2.7. Klonidin

Klonidin imidazolin türevi antihipertansif bir drogdur. Alfa-2 adrenerjik reseptörlerde (adrenoseptörlerde) agonist etki gösterir. Bu reseptörler santral sinir sisteminde ve periferde yerleşim gösterir ve G-proteinine kenetli olup alfa-2A, alfa-2B ve alfa-2C olmak üzere 3 alt tipi sahiptir. Klonidin alt tiplerin üçünü de uyarır. Otoresseptör olarak noradrenerjik sinir uçlarında yerleşim gösteren alfa-2 adrenoseptörlerin uyarılması kalsiyum ile uyarılan kanallardan potasyumun dışarı çıkışına ve sinir ucu membranında hiperpolarizasyona, nöronal ateşlemenin ve bunun sonucunda noradrenalin salıverilmesinin azalmasına yol açar (Pichot ve ark. 2012). Böylece sempatotolitik etki ortaya çıkar. Klonidin kan basıncını beyin sapında vazomotor merkezi içine alan rostral ventolateral medulla oblongata'daki postsinaptik reseptörleri uyararak düşürür. Alınan dozun yaklaşık %50 kadarı karaciğerde metabolize olur. Yarılanma ömrü 12-16 saattir. Sakinleşme, ağız kuruluğu, bradikardi, kabızlık, burun tıkanıklığı, ortostatik hipotansiyon gibi istenmeyen etkilere neden olur. Klonidin son yıllarda yoğun bakım birimlerinde analjezik ve sakinleştirici olarak kullanılmaktadır (Kayaalp 2012 p. 1022; Katzung 2018 pp. 180-181).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Deney Hayvanları

Çalışmada, İstanbul Üniversitesi Aziz Sancar Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü, Laboratuvar Hayvanları Bilimi Anabilim Dalında üretilen 220-300 g ağırlığında 84 adet erişkin Sprague Dawley erkek sıçan kullanıldı. Hayvanlar, 3-4 tanesi bir arada olmak üzere, uygun büyüklükteki şeffaf plastik kafeslerde, sıcaklığı 21–23°C olan ve 12 saat aydınlık-karanlık (07.00-19.00) ritminin uygulandığı bir ortamda, su ve yem alımı serbest olmak üzere barındırıldı. Deneyler standart laboratuvar koşullarında yürütüldü. Çalışmanın etik kurul ilkelerine uygun olduğu İstanbul Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulunun 25.12.2015 tarihli 2016/19 sayılı kararı ile onaylanmıştır.

3.2. Droglar ve Uygulamalar

Oksitosin (Deva İlaç Fabrikası), klonidin hidroklorür (Sigma, St. Louis, MO), morfin hidroklorür (Sigma, St. Louis, MO) ve nalokson hidroklorür (Sigma, St. Louis, MO) serum fizyolojik içinde çözüldü. Çözeltiler uygulama günleri taze hazırlandı. Oksitosin ve nalokson deri altına, klonidin ve morfin periton içine ve serum fizyolojik deri altına veya periton içine uygulandı. Deri altı enjeksiyonlar 1 ml/kg, periton içi enjeksiyonlar 2 ml/kg olarak yapıldı. Pelet uygulamasında Marmara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalında hazırlanmış olan morfin ve plasebo peletleri kullanıldı. Morfin peletleri 75 mg baz morfin, 75 mg mikrokristalize selüloz (Avicel), 1,5 mg kalsiyum stearat ve 0,75 mg silikon dioksit, plasebo peletleri 150 mg mikrokristalize selüloz, 1,5 mg kalsiyum stearat ve 0,75 mg silikon dioksit karıştırılarak, çapı 6 mm ve kalınlığı 3 mm olan tabletler halinde hazırlandı (Gibson ve Tingstad 1970).

3.3. Kızgın Levha Testi

Test için yüzey sıcaklığı $52,5 \pm 0,5^\circ\text{C}$ ve yüzey alanı 35x50 cm olan 8 cm yüksekliğinde dikdörtgen bir metal ısıtıcı levha kullanıldı. Levha üzerine konulan hayvanın arka ayağını çekme, pençesini yalama veya sıçrama hareketine kadar geçen süre bir kronometre ile saptandı. Sonuçlar ayak çekme süresi olarak verildi. Doku hasarını önlemek için testi sonlandırma (kesme) süresi 50 saniye olarak belirlendi (Morgan ve ark. 2014).

3.4. Kuyruk Daldırma Testi

Test için hayvan önce sabitleştirici bir kafese konuldu. Kafes, kuyruk kenardan aşağıya sarkacak şekilde masa üzerine yerleştirildi. Kuyruğun ucundan itibaren yaklaşık 2,5-3 cm'lik bölümü içinde 52°C sıcaklığında su olan bir behere yavaşça daldırıldı. Hayvanın kuyruğunu çekme süresi bir kronometre ile saptandı. Test 10 saniye aralıklar ile 2 kez daha tekrarlandı (Zhou ve ark. 2014). Her ölçüm sonrası kuyruk pamuk ile kurulandı. Doku hasarını önlemek için testi sonlandırma süresi 15 saniye olarak belirlendi (Hepburn ve ark. 1997). Sonuçlar 3 ölçümün ortalaması olarak verildi.

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

$$\%MPE = \frac{(\text{drog uygulamasından sonraki süre} - \text{drog uygulamasından önceki süre})}{(\text{sonlandırma süresi} - \text{drog uygulamasından önceki süre})} \times 100$$

3.5. Vücut Sıcaklığı Ölçümü

Ölçüm için sabitleştirici kafese konulmuş hayvanın kuyruğu stres oluşturmamak biçimde tutuldu. Rektal boşluğa termometrenin ucu yerleştirilerek vücut sıcaklığı ölçüldü.

3.6. Deneylerin Yürütülmesi

Sıçanlar kontrol (n=41) ve oksitosin (n=43) olmak üzere iki ana gruba ayrıldı. Tartılarak başlangıç vücut ağırlıkları saptanan hayvanlarda sırası ile kızgın levha ve kuyruk daldırma testleri ile bazal ağrı eşiği ve vücut sıcaklığı ölçümleri yapıldı. Ölçümlerden sonra günde bir kez sabah 09.00'da kontrol grubuna serum fizyolojik ve oksitosin grubuna 1 mg/kg oksitosin uygulandı. Uygulamalar 5 gün sürdü. Son uygulamadan bir gün sonra hayvanlar tartıldı ve oksitosinin ağrı eşiğine ve vücut sıcaklığına etkileri Deney 1'de değerlendirildi. Ölçümlerin ardından hayvanlar içinde eter ile ıslatılmış pamuk bulunan bir cam kaba alındı. Hafif eter anestezisi altında sırt derileri 1 cm kadar kesildi. İki adet plasebo veya morfin peleti deri altına yerleştirildi ve kesi dikildi. Böylece; kontrol-plasebo, kontrol-morfin, oksitosin-plasebo ve oksitosin-morfin grupları oluşturuldu. Bu gruplarda tolerans gelişmesi Deney 2'de, bağımlılık gelişmesi Deney 3'te ve ağrı eşiğinin ve vücut sıcaklığının klonidine yanıtı Deney 4'te araştırıldı. Deney gruplarının oluşturulması ve deney akışı Tablo 3-1'de gösterilmiştir.

Ölçümler 09.00-16.00 saatleri arası yapıldığından, deneyler, gruplardan 2 veya 3 hayvan alınarak belirli aralıklarla başlatılıp yürütüldü. Deneylerde araştırmacıların uygulamalara kör olması sağlandı.



Tablo 2.6.1: Deney grupları ve deney akışı

	İnjesiyon (5 gün)	Deney 1	Deney 2 Pelet uygulaması	Deney 2a	Deney 2b	Deney 3	Deney 4
Kontrol	Serum fizyolojik	+	Plasebo/morfin peleti	Kontrol-plasebo	Morfin	Serum fizyolojik+ Nalokson	-
						Klonidin+nalokson	
				Kontrol-plasebo	-	-	Serum fizyolojik
							Klonidin
				Kontrol-morfin	Morfin	Serum fizyolojik+ Nalokson	-
						Klonidin+nalokson	
Oksitosin	Oksitosin	+	Plasebo/morfin peleti	Oksitosin-plasebo	Morfin	Serum fizyolojik+ nalokson	-
						Klonidin+nalokson	
				Oksitosin-plasebo	-	-	Serum fizyolojik
							Klonidin
				Oksitosin-morfin	Morfin	Serum fizyolojik+ nalokson	-
						Klonidin+nalokson	

3.6.1. Deney 1. Beş gün oksitosin uygulanan sıçanlarda ağrı eşiğinin ve vücut sıcaklığının değerlendirilmesi

Serum fizyolojik ve oksitosin enjeksiyonları bittikten bir gün sonra oksitosinin vücut ağırlığına etkisini değerlendirmek için kontrol ve oksitosin gruplarındaki hayvanlar tartıldı. Tartımların hemen ardından kontrol ve oksitosin gruplarındaki hayvanlara sırası ile kızgın levha ve kuyruk daldırma testleri uygulandı ve vücut sıcaklığı ölçümleri yapıldı.

3.6.2. Deney 2. Beş gün oksitosin uygulanan sıçanlarda morfine tolerans gelişmesinin değerlendirilmesi

3.6.2.1. Deney 2a. Morfinin etkisinin zamana göre seyrinin değerlendirilmesi

Kontrol-plasebo, kontrol-morfin, oksitosin-plasebo ve oksitosin-morfin gruplarındaki hayvanlara pelet uygulanmasından 4, 24 ve 48 saat sonra sırası ile kızgın levha ve kuyruk daldırma testleri uygulandı ve vücut sıcaklığı ölçümleri yapıldı. Böylece morfinin ağrı eşiğine ve vücut sıcaklığına etkisinin zamana göre seyri değerlendirildi. Ölçümlerin ardından kontrol-plasebo ve oksitosin-plasebo gruplarındaki hayvanların bir bölümü Deney 4 için ayrıldı (Tablo 3-1).

3.6.2.2. Deney 2b. Ek doz morfinin etkisinin değerlendirilmesi

Morfinin ağrı eşiğine ve vücut sıcaklığına etkisine tolerans gelişmesini ek doz (challenge doz) morfin vererek değerlendirmek için kontrol-morfin, oksitosin-morfin ve bu deney için ayrılmış kontrol-plasebo ve oksitosin-plasebo gruplarındaki hayvanlara 48 saat sonra ölçümlerin hemen ardından 10 mg/kg morfin verildi (Tablo 3-1). Kırk dakika sonra kızgın levha ve kuyruk daldırma testleri ve vücut sıcaklığı ölçümleri yapıldı. Morfin verilmesinden önceki (48 saat sonraki) ve sonraki değerler kullanılarak %MPE oluşturuldu.

3.6.3. Deney 3. Beş gün oksitosin uygulanan sıçanlarda morfine bağımlılık gelişmesinin ve klonidine yanıtın değerlendirilmesi

Kontrol-plasebo, oksitosin-plasebo, kontrol-morfin ve oksitosin-morfin gruplarındaki hayvanlara ek doz morfin ölçümlerinden 2 saat sonra serum fizyolojik veya 0,2 mg/kg klonidin verildi. Böylece kontrol-plasebo, kontrol-plasebo+klonidin, kontrol-morfin, kontrol-morfin+klonidin, oksitosin-plasebo ve oksitosin-morfin+klonidin grupları oluşturuldu. On dakika sonra tartılan ve 1 mg/kg nalokson uygulanan (Tablo 3-1) hayvanlar izleme kafeslerine (20x25x20 cm) alındı. On beş

dakika izlenen hayvanlarda yoksunluk belirtileri olarak ıslak köpek silkelenmesi, sıçrama (kapağı açık kafesten dışarıya uçma), şahlanma ve defekasyon (dışkılama) sayıldı. Göz kapağında düşme, ishal ve diş gıcırdatma 1'den 3'e kadar derecelendirildi. Ejakülasyon (meni boşalması), ürinasyon (işeme), karın uzatma, kılların diklenmesi, dokunmaya ses yanıtı (vokalizasyon) ve elektriklenme (vücut titremesi) var-yok (1-0) olarak değerlendirildi. İzleme süresinin sonunda tekrar tartılan hayvanlarda ağırlık kaybı saptandı. Islak köpek silkelenmesi ve sıçrama dışındaki belirtilerin verileri bir araya getirilerek 'diğer belirtiler' olarak değerlendirildi.

3.6.4. Deney 4. Beş gün oksitosin uygulanan sıçanlarda ağrı eşiğinde ve vücut sıcaklığında klonidine yanıtın değerlendirilmesi

Pelet konulmasından 48 saat sonraki ölçümlerin hemen ardından deney için ayrılmış kontrol-plasebo ve oksitosin-plasebo gruplarındaki hayvanlara serum fizyolojik veya 0,2 mg/kg klonidin verildi (Tablo 3-1). Otuz dakika sonra kızgın levha ve kuyruk daldırma testleri ve vücut sıcaklığı ölçümleri yapıldı.

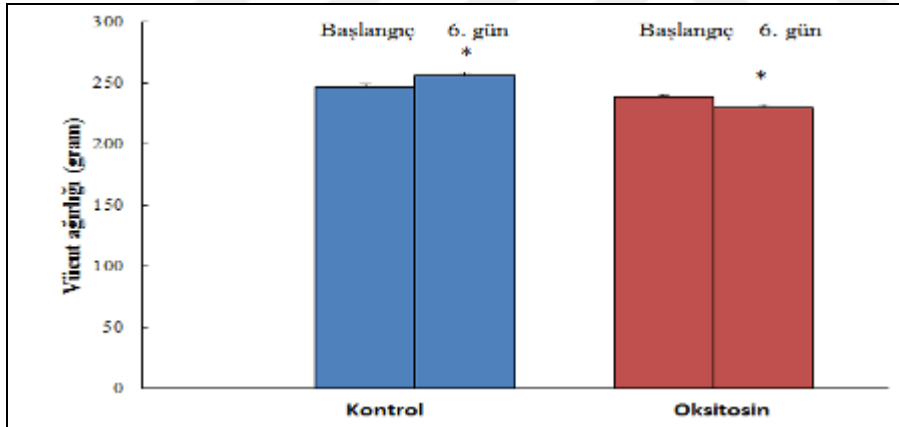
3.7. İstatistiksel Değerlendirme

Verilerin istatistiksel olarak değerlendirilmesinde, verilerin dağılımına uygun olarak ağrı eşiği, vücut sıcaklığı ve yoksunluk belirtileri Kruskal-Wallis veya tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ile değerlendirildi. Grup karşılaştırmalarında ağrı eşiği ve vücut sıcaklığı için Mann-Whitney U, Scheffe, Tamhane, Dunn, Tukey veya eşleşmiş t testi, yoksunluk belirtilerinde Dunn testi kullanıldı. Ağrı eşiğinde zamana bağlı etki Friedman Varyans analizi ile ve vücut sıcaklığında zamana bağlı etki tekrarlı ölçümlerde çift yönlü varyans analizi ile değerlendirildi. Anlamlılık değeri olarak $p \leq 0,05$ kabul edildi. Değerler ortalama $\pm$ standart hata olarak verildi.

4. BULGULAR

Beş gün serum fizyolojik veya oksitosin uygulamaları başlamadan önce yapılan kızgın levha ve kuyruk daldırma testleri ve vücut sıcaklığı ölçümleri sırası ile kontrol grubundaki sıçanlarda $2,9 \pm 0,14$ ve $4,5 \pm 0,70$ saniye ve $36,6 \pm 0,12^\circ\text{C}$ ve oksitosin grubundaki sıçanlarda $3,4 \pm 0,16$ ve $4,7 \pm 0,18$ saniye ve $36,6 \pm 0,12^\circ\text{C}$ oldu. İki grup arasında başlangıç (bazal) değerlerde anlamlı fark saptanmadı. Grup içi değerlendirmelerde 3 ölçümde de deneyleri etkileyebilecek bireysel farklar saptanmadığı için deney dışı bırakılan hayvan olmadı.

Kontrol ve oksitosin gruplarında uygulamalardan hemen önce (1. gün) ölçülen vücut ağırlıkları ile 5 günlük uygulamalardan 1 gün sonra (6. gün) ölçülen vücut ağırlıkları Şekil 4-1'de gösterilmiştir. Kontrol grubunda ağırlık artışı ve oksitosin grubunda ağırlık kaybı ortaya çıktı ($p < 0,001$).



Şekil 3.6.2.2: Beş gün oksitosin uygulanan sıçanlarda vücut ağırlığı değişikliği

Beş gün serum fizyolojik veya 1 mg/kg oksitosin uygulanan kontrol ve oksitosin gruplarındaki hayvanların başlangıçta ve son dozdan 1 gün sonra ağırlıkları ölçüldü.

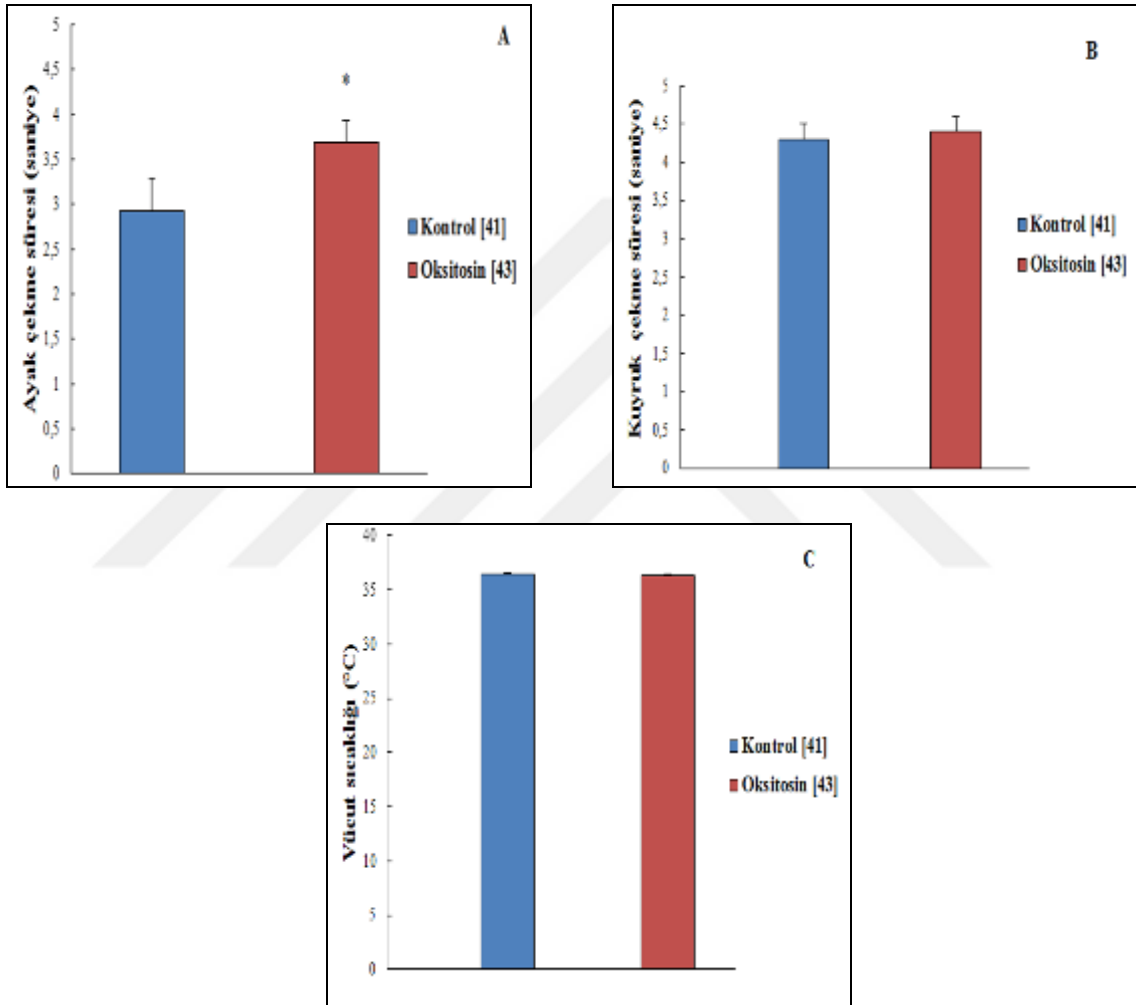
* $p < 0,001$, 1. günlerine göre (Mann-Whitney U testi)

4.1. Deney 1. Beş gün oksitosin uygulanmasının sıçanlarda ağrı eşiği ve vücut sıcaklığına etkisi

Kontrol ve oksitosin gruplarında uygulamalardan bir gün sonra yapılan ölçümlerde kızgın levha ve kuyruk daldırma testlerinde ağırlı uyarana yanıt ve vücut sıcaklığı ölçümleri Şekil 4-2'de gösterilmiştir.

Serum fizyolojik uygulanan hayvanlar ile karşılaştırıldığında, oksitosin uygulanan hayvanlarda kızgın levha testinde ayak çekme süresi daha uzun oldu ($p<0,001$). Kuyruk daldırma testinde ise iki grup arasında anlamlı bir fark saptanmadı.

Serum fizyolojik uygulanan hayvanlar ile karşılaştırıldığında, oksitosin uygulanan hayvanlarda vücut sıcaklığında anlamlı bir fark ortaya çıkmadı.



Şekil 3.6.2.22: Beş gün oksitosin uygulanan sıçanlarda ağrı eşiği ve vücut sıcaklığı

Beş gün serum fizyolojik veya 1 mg/kg oksitosin uygulanan kontrol ve oksitosin gruplarındaki hayvanlarda son dozdan 1 gün sonra 1'er dakika ara ile kızgın levha (A) ve kuyruk daldırma (B) testleri ile ağrı eşiği ve vücut sıcaklığı (C) ölçüldü.

[]: gruplardaki hayvan sayıları

* $p<0,001$, kontrol grubuna göre (Mann-Whitney U testi veya eşleşmiş t testi)

4.2. Deney 2. Beş gün oksitosin uygulanmasının sıçanlarda morfine tolerans gelişmesine etkisi

4.2.1. Deney 2a. Morfinin etkisinin zamana göre seyri

Beş gün serum fizyolojik ve oksitosin uygulamalarından bir gün sonra oluşturulan kontrol-plasebo, kontrol-morfin, oksitosin-plasebo ve oksitosin-morfin gruplarında pelet uygulanmasından 4, 24 ve 48 saat sonra yapılan ölçümlerde kızgın levha ve kuyruk daldırma testlerinde ağırlı uyarana yanıt ve vücut sıcaklığı ölçümleri Şekil 4-3'te gösterilmiştir.

Kruskal Wallis analizine göre kızgın levha testinde 4 ($\chi^2=62,261$, s.d.=3; $p<0,001$) ve 24 ($\chi^2=47,669$, s.d.=3; $p<0,001$) saat sonra yapılan ölçümlerde gruplar arasında anlamlı fark saptandı, 48 saat sonra yapılan ölçümlerde ise bir değişiklik ortaya çıkmadı ($\chi^2=2,721$, s.d.=3; $p=0,437$). Kontrol-plasebo grubu ile karşılaştırıldığında, kontrol-morfin grubunda ve oksitosin-plasebo grubu ile karşılaştırıldığında, oksitosin-morfin grubunda 4 ve 24 saat sonra ayak çekme süresi daha uzun oldu ($p<0,001$). Kontrol-morfin ve oksitosin-morfin grupları karşılaştırıldığında, ayak çekme süresinde bir fark ortaya çıkmadı. Kontrol-plasebo ve oksitosin-plasebo grupları arasında da fark bulunmadı.

Friedman varyans analizine göre kızgın levha testinde 4, 24 ve 48 saat sonra tekrarlı ölçümlerde zamana bağlı anlamlı fark saptandı. Kontrol-morfin grubunda 4 saat sonraki ölçümlere göre 24 ($p<0,01$) ve 48 ($p<0,001$) saat sonra ayak çekme süresi daha kısa oldu. Oksitosin-morfin grubunda 4 saat sonraki ölçümlere göre 24 ($p<0,01$) ve 48 ($p<0,001$) saat sonra ve 24 saat sonraki ölçümlere göre 48 saat sonra ($p<0,01$) ayak çekme süresi kısaldı. Oksitosin-plasebo grubunda 4 saat sonraki ölçümlere göre 24 saat sonra ayak çekme süresi daha kısa oldu ($p<0,05$). Kontrol-plasebo grubunda 4, 24 ve 48 saat sonraki ölçümler arasında bir fark ortaya çıkmadı.

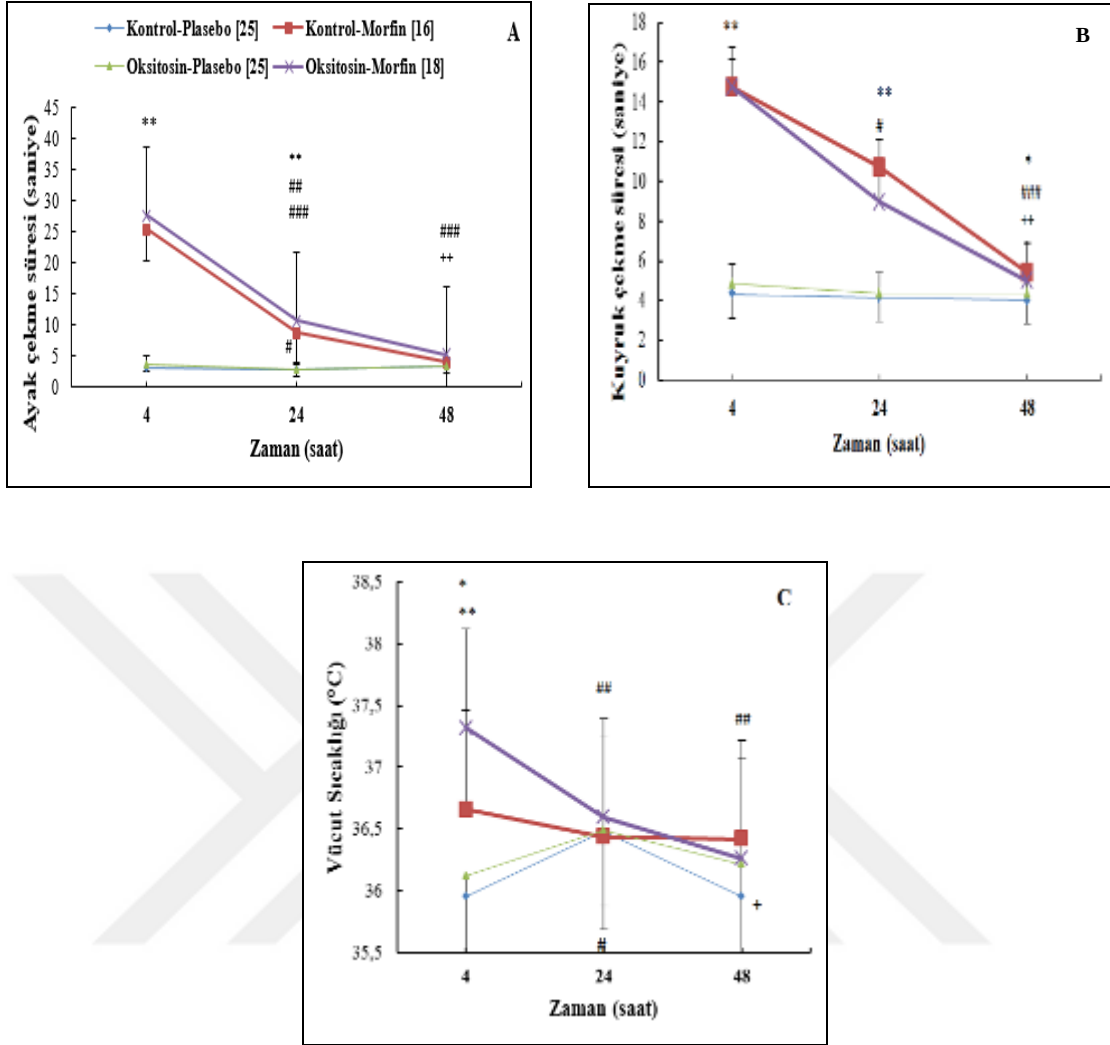
Kruskal Wallis analizine göre kuyruk daldırma testinde 4 ($\chi^2=63,999$ s.d.=3; $p<0,001$) ve 48 ($X^2=8,539$ s.d.=3; $p<0,05$) saat ve tek yönlü varyans analizine göre 24 saat ($F=39,625$, s.d.=3; $p<0,001$) sonra yapılan ölçümlerde gruplar arasında anlamlı fark saptandı. Kontrol-plasebo grubu ile karşılaştırıldığında, kontrol-morfin grubunda kuyruk çekme süresi 4, 24 ($p<0,001$) ve 48 ($p<0,05$) saat sonra daha uzun oldu. Oksitosin-plasebo grubu ile karşılaştırıldığında, oksitosin-morfin grubunda kuyruk çekme süresi 4 ve 24 saat sonra daha uzun olurken ($p<0,001$), 48 saat sonra fark göstermedi. Kontrol-morfin ve oksitosin-morfin grupları karşılaştırıldığında, 4 ve 24

saat sonraki ölçümlerde bir fark ortaya çıkmadı. Kontrol-plasebo ve oksitosin-plasebo grupları arasında da fark bulunmadı.

Friedman varyans analizine göre kuyruk daldırma testinde 4, 24 ve 48 saat sonra tekrarlı ölçümlerde zamana bağlı anlamlı fark saptandı. Kontrol-morfin grubunda 4 ve 24 saat sonraki ölçümlere göre 48 saat sonra kuyruk çekme süresi daha kısa oldu ($p<0,001$; $p<0,01$). Oksitosin-morfin grubunda 4 saat sonraki ölçümlere göre 24 ($p<0,05$) ve 48 ($p<0,001$) saat sonra ve 24 saat sonraki ölçümlere göre 48 saat sonra ($p<0,01$) kuyruk çekme süresi daha kısa bulundu. Kontrol-plasebo ve oksitosin-plasebo gruplarında 4, 24 ve 48 saat sonraki ölçümler karşılaştırıldığında bir fark ortaya çıkmadı.

Tek yönlü varyans analizine göre vücut sıcaklığında 4 saat sonra gruplar arasında anlamlı fark saptandı ($F=14,369$, s.d.=3; $p<0,001$), 24 ($F=0,114$, s.d.=3; $p=0,952$) ve 48 ($F=1,322$, s.d.=3; $p=0,273$) saat sonraki ölçümlerde ise bir değişiklik ortaya çıkmadı. Kontrol-plasebo grubu ile karşılaştırıldığında, kontrol-morfin grubunda ($p<0,05$) ve oksitosin-plasebo grubu ile karşılaştırıldığında, oksitosin-morfin grubunda ($p<0,001$) vücut sıcaklığı 4 saat sonra daha yüksek oldu. Kontrol-morfin ve oksitosin-morfin grupları karşılaştırıldığında bir fark ortaya çıkmadı. Kontrol-plasebo ve oksitosin-plasebo grupları arasında da fark bulunmadı.

Tekrarlı ölçümlerde çift yönlü varyans analizine göre vücut sıcaklığında 4, 24 ve 48 saat sonra zamana bağlı anlamlı fark saptandı ($F=4,485$, s.d.=3; $p<0,01$). Kontrol-morfin ve oksitosin-plasebo gruplarında 4, 24 ve 48 saat sonraki ölçümler karşılaştırıldığında bir fark ortaya çıkmadı. Kontrol-plasebo grubunda vücut sıcaklığı 4 saat sonraki ölçümlere göre 24 saat sonra arttı ($p<0,05$) ve 24 saat sonraki ölçümlere göre 48 saat sonra azaldı ($p<0,05$). Oksitosin-morfin grubunda ise vücut sıcaklığı 4 saat sonraki ölçümlere göre 24 ve 48 saat sonra daha az oldu ($p<0,01$).



Şekil 3.6.2.23: Beş gün oksitosin uygulanan sıçanlarda morfinin ağrı eşiğine ve vücut sıcaklığına etkisinin zamana göre seyri

Beş gün serum fizyolojik veya oksitosin uygulandıktan 1 gün sonra ölçümlerin ardından oluşturulan plasebo ve morfin gruplarındaki hayvanlarda pelet konulmasından 4, 24 ve 48 saat sonra 1'er dakika ara ile kızgın levha (A) ve kuyruk daldırma (B) testleri ile ağrı eşiği ve vücut sıcaklığı (C) ölçüldü.

[]: gruplardaki hayvan sayıları

* $p < 0,05$, ** $p < 0,001$, kontrol-plasebo veya oksitosin-plasebo grubuna göre (Dunn, Scheffe veya Tamhane testleri)

$p < 0,05$, ## $p < 0,01$, ### $p < 0,001$, 4 saat sonraki ölçüme göre

+ $p < 0,05$, ++ $p < 0,01$, 24 saat sonraki ölçüme göre (Friedman veya tekrarlı ölçümlerde çift yönlü varyans analizi)

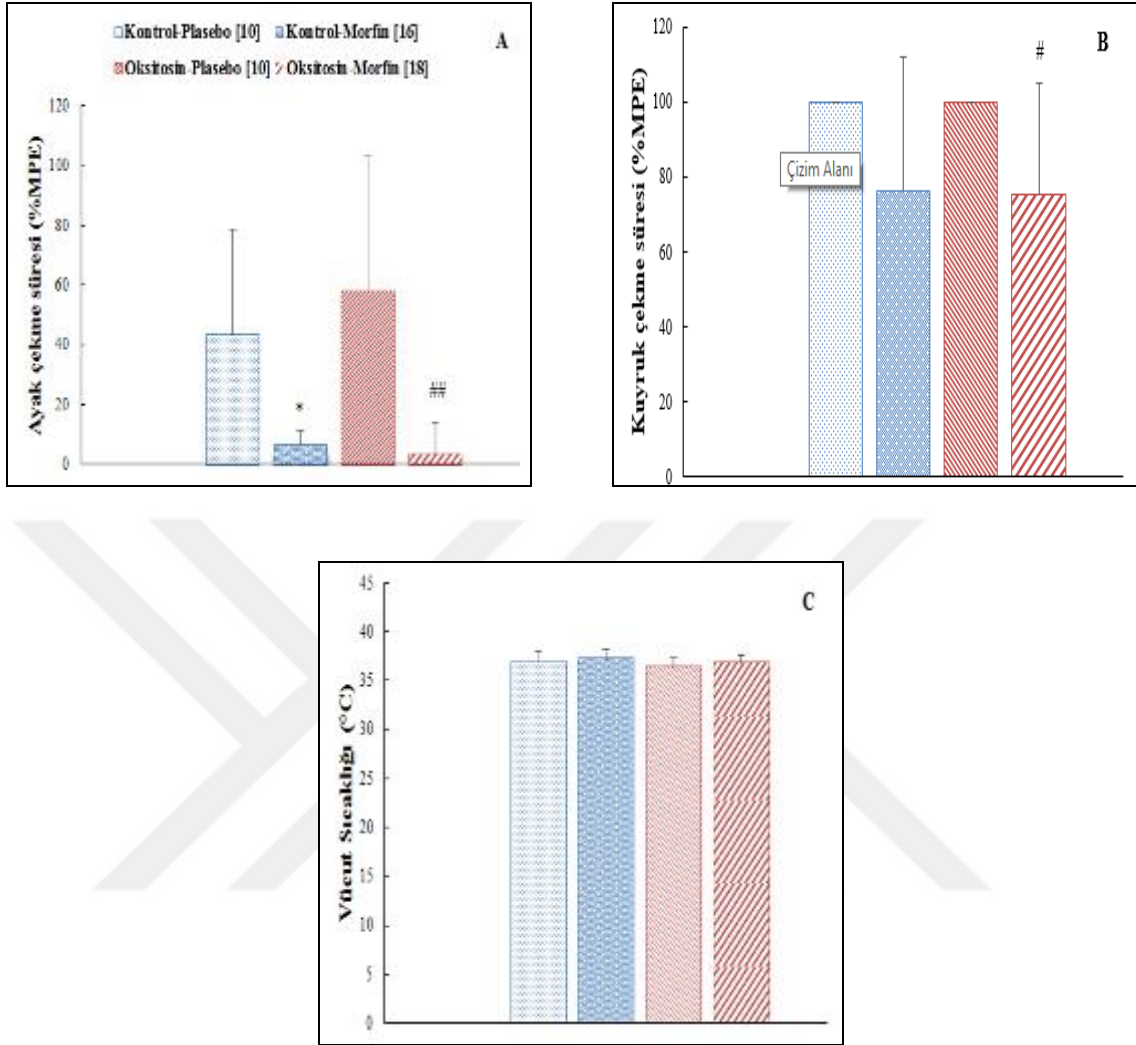
4.2.2. Deney 2b. Ek doz morfinin etkisi

Kontrol-plasebo, kontrol-morfin, oksitosin-plasebo ve oksitosin-morfin gruplarına ek doz morfin uygulanmasında kızgın levha ve kuyruk daldırma testlerinde ağırlı uyarana yanıt ve vücut sıcaklığı ölçümleri Şekil 4-4'te gösterilmiştir.

Kruskal Wallis analizine göre kızgın levha testinde gruplar arasında tek doz morfin etkisine bağlı anlamlı fark saptandı ($\chi^2=25,4$, s.d=3; $p<0,001$). Kontrol-plasebo grubu ile karşılaştırıldığında, kontrol-morfin grubunda ($p<0,02$) ve oksitosin-plasebo grubu ile karşılaştırıldığında, oksitosin-morfin grubunda ($p<0,001$) %MPE daha az oldu. Kontrol-morfin ve oksitosin-morfin grupları karşılaştırıldığında fark ortaya çıkmadı. Kontrol-plasebo ve oksitosin-plasebo grupları arasında da fark bulunmadı.

Kruskal Wallis analizine göre kuyruk daldırma testinde gruplar arasında tek doz morfin etkisine bağlı anlamlı fark saptandı ($\chi^2=13,133$, s.d=3; $p<0,01$). Kontrol-plasebo grubu ile karşılaştırıldığında, kontrol-morfin grubunda %MPE fark göstermedi. Oksitosin-plasebo grubu ile karşılaştırıldığında, oksitosin-morfin grubunda %MPE daha az oldu ($p<0,05$). Kontrol-plasebo ve oksitosin-plasebo grupları arasında fark saptanmadı.

Kruskal Wallis analizine göre vücut sıcaklığında gruplar arasında tek doz morfin etkisine bağlı anlamlı fark saptanmadı ($\chi^2=4,092$, s.d.=3; $p=0,252$).



Şekil 3.6.2.24: Beş gün oksitosin uygulanan sıçanlarda morfinin ağrı eşiği ve vücut sıcaklığına etkisine tolerans gelişiminde ek doz morfine yanıt

Beş gün serum fizyolojik veya 1 mg/kg oksitosin uygulandıktan sonra oluşturulan plasebo ve morfin gruplarındaki hayvanlara 48 saat sonraki ölçümlerin ardından 10 mg/kg morfin uygulandı. Kırk dakika sonra 1'er dakika ara ile kızgın levha (A) ve kuyruk daldırma (B) testleri ile ağrı eşiği ve vücut sıcaklığı (C) ölçüldü. Ağrı eşiğinde %MPE, 48 saat sonraki ölçümler bazal değer olarak alınarak hesaplandı.

[]: gruplardaki hayvan sayıları

*p<0,01, kontrol-plasebo grubuna göre

#p<0,05, ##p<0,001, oksitosin-plasebo grubuna göre (Dunn testi)

4.3. Deney 3. Oksitosinin morfine bağımlılık gelişmesine etkisi ve yoksunluk belirtilerinin klonidine yanıtı

Tolerans gelişimi değerlendirildikten sonra serum fizyolojik veya klonidin verilen kontrol-plasebo, kontrol-morfin, oksitosin-plasebo ve oksitosin-morfin gruplarında naloksona bağlı yoksunluk belirtileri Tablo 4-1’de gösterilmiştir.

Kruskal-Wallis analizine göre ağırlık kaybında ($\chi^2=27,313$, s.d.=7; $p<0,001$), sıçramada ($\chi^2=22,11$, s.d.=7; $p<0,01$), ıslak köpek silkelenmesinde ($\chi^2=16,54$, s.d.=7; $p<0,02$) ve diğer belirtilerde ($\chi^2=29,29$, s.d.=7; $p<0,001$) gruplar arasında anlamlı fark saptandı. Kontrol-plasebo grubu ile karşılaştırıldığında, kontrol-morfin grubunda ağırlık kaybı ($p<0,02$) ve ıslak köpek silkelenmesi ($p<0,01$) daha fazla oldu, sıçrama ve diğer belirtilerde bir fark ortaya çıkmadı. Oksitosin-plasebo grubu ile karşılaştırıldığında, oksitosin-morfin grubunda ağırlık kaybı ($p<0,02$) daha fazla oldu, ıslak köpek silkelenmesi, sıçrama ve diğer belirtilerde fark saptanmadı. Kontrol-morfin ve oksitosin-morfin grupları karşılaştırıldığında, ağırlık kaybında bir fark bulunmadı. Kontrol-morfin ve oksitosin-morfin gruplarına klonidin uygulanması serum fizyolojik uygulanmasına göre sıçramayı artırdı ($p<0,05$), ağırlık kaybında, ıslak köpek silkelenmesinde ve diğer belirtilerde bir değişikliğe yol açmadı. Kontrol-morfin ve oksitosin-morfin grupları karşılaştırıldığında, sıçramada bir fark bulunmadı. Kontrol-plasebo ve oksitosin-plasebo gruplarına klonidin uygulanması yoksunluk belirtileri olarak değerlendirilebilecek bir değişikliğe yol açmadı.

Tablo 4.2.2: Beş gün oksitosin uygulanan sıçanlarda morfine bağımlılık gelişmesi ve yoksunluk belirtilerinin klonidine yanıtı

	Kontrol-Plasebo +Serum fizyolojik [5]	Kontrol-Plasebo +Klonidin [5]	Kontrol-Morfin +Serum fizyolojik [8]	Kontrol-Morfin +Klonidin [8]	Oksitosin-Plasebo +Serum fizyolojik [5]	Oksitosin-Plasebo +Klonidin [5]	Oksitosin-Morfin +Serum fizyolojik [9]	Oksitosin-Morfin +Klonidin [9]
Ağırlık kaybı	0,9±1,75	5,2±1,82	6,4±2,24*	4,2±2,12	0,8±1,52	4,3±1,15	5,9±2,31*	2,5±1,09
Diğer belirtiler	15,2±5,67	8,6±2,07	24,5±8,53	10,4±5,07	9,4±3,05	8,2±3,03	22±8,29	12,6±4,80
Islak köpek silkelmesi	0±0	0±0	1,5±1,51**	0,8±1,39	0±0	0±0	0,3±0,70	0,1±0,33
Sıçrama	0±0	0±0	0,6±1,41	5±7,52 [#]	0±0	0±0	1,3±3,04	3,3±6,07 [#]

Ek doz morfin uygulamasından 2 saat sonra serum fizyolojik veya 0,2 mg/kg klonidin, 10 dakika sonra 1 mg/kg nalokson verilen plasebo ve morfin gruplarındaki hayvanlarda 15 dakika yoksunluk belirtileri izlendi. Ağırlık kaybı (g) için hayvanlar naloksondan önce ve izleme sonrası tartıldı. Sıçrama ve ıslak köpek silkelmesi sayıldı. Diğer belirtiler sayı, derecelendirme veya var-yok olarak değerlendirildi.

[]: gruplardaki hayvan sayıları

*p<0,05, **p<0,01, kontrol-plasebo+serum fizyolojik veya oksitosin-plasebo+serum fizyolojik grubuna göre

[#]p<0,05, kontrol-morfin+serum fizyolojik veya oksitosin-morfin+serum fizyolojik grubuna göre (Dunn testi)

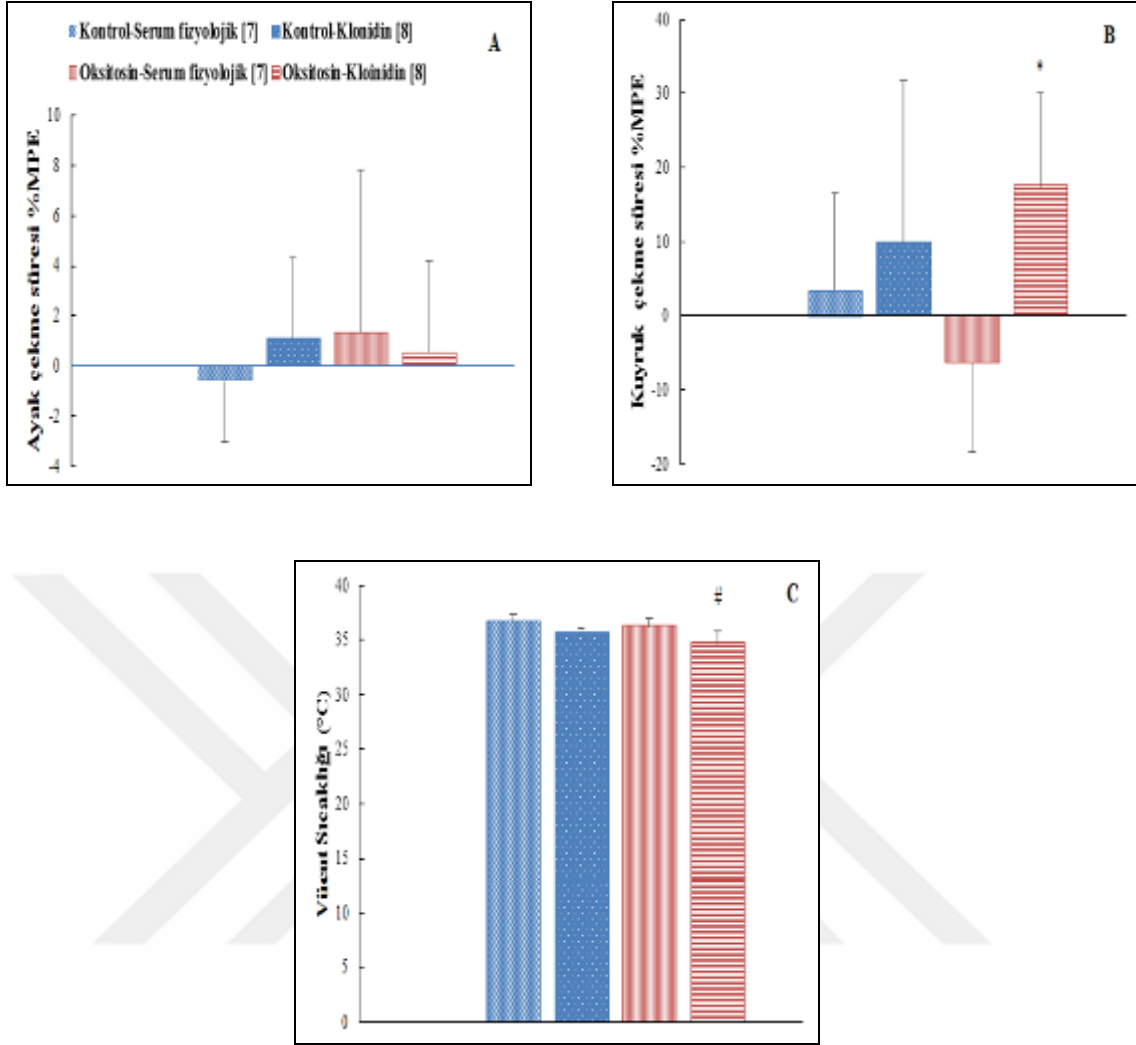
4.4. Deney 4. Beş gün oksitosin uygulanan sıçanlarda ağrı eşiğinde ve vücut sıcaklığında klonidine yanıt

Pelet konulmasından 48 saat sonraki ağrı eşiği ve vücut sıcaklığı ölçümlerinden sonra serum fizyolojik veya klonidin uygulanan kontrol-plasebo ve oksitosin-plasebo gruplarında ağrılı uyarana yanıt ve vücut sıcaklığı ölçümleri Şekil 4-5'te gösterilmiştir.

Tek yönlü varyans analizine göre kızgın levha testinde gruplar arasında anlamlı fark saptanmadı ($F=0,310$, s.d.=3; $p=0,818$).

Tek yönlü varyans analizine göre kuyruk daldırma testinde gruplar arasında anlamlı fark saptandı ($F=3,13$, s.d.=3; $p<0,05$). Kontrol-plasebo grubuna klonidin uygulanması serum fizyolojik uygulanmasına göre %MPE'de bir değişiklik oluşturmazken, oksitosin-plasebo grubuna klonidin uygulanması %MPE'yi artırdı ($p<0,05$). Klonidin uygulanan kontrol-plasebo ve oksitosin-plasebo grupları karşılaştırıldığında bir fark ortaya çıkmadı.

Tek yönlü varyans analizine göre vücut sıcaklığı ölçümlerinde gruplar arasında anlamlı fark saptandı ($F=8,308$, s.d.=3; $p<0,001$). Kontrol-plasebo grubuna klonidin uygulanması serum fizyolojik uygulanmasına göre bir fark oluşturmazken oksitosin-plasebo grubuna klonidin uygulanması vücut sıcaklığını düşürdü ($p<0,01$). Klonidin uygulanan kontrol-plasebo ve oksitosin-plasebo grupları karşılaştırıldığında bir fark ortaya çıkmadı.



Şekil 3.6.2.25: Beş gün oksitosin uygulanan sıçanlarda ağrı eşiği ve vücut sıcaklığında klonidine yanıt

Beş gün oksitosin veya serum fizyolojik uygulandıktan sonra 48 saat sonraki ölçümlerin ardından ayrılan plasebo gruplarındaki hayvanlara serum fizyolojik veya 0,2 mg/kg klonidin verildi. Otuz dakika sonra 1'er dakika ara ile kızgın levha (A) ve kuyruk daldırma (B) testleri uygulandı ve vücut sıcaklığı (C) ölçüldü. Ağrı eşiğinde %MPE 48 saat sonraki ölçümler bazal değer olarak alınarak hesaplandı.

[]: gruplardaki hayvan sayıları

* $p < 0,05$, # $p < 0,01$, oksitosin-plasebo+serum fizyolojik grubuna göre (Tukey testi)

5. TARTIŞMA

Bu çalışmada; 5 gün oksitosin verilen sıçanlarda 1 gün sonra vücut ağırlığı, ağrı eşiği ve vücut sıcaklığı ölçüldü. Ardından hayvanlara plasebo veya morfin peleti konuldu ve morfinin ağrı eşiğine ve vücut sıcaklığına etkilerine tolerans gelişmesi ve bağımlılık oluşturmaları ve ağrı eşiğinde ve vücut sıcaklığında alfa-2 adrenerjik reseptör agonisti klonidine yanıt değerlendirildi. Bulgular, tekrarlayan dozda oksitosin uygulanmasının beyinde oluşturduğu adrenerjik ve opioderjik değişiklikler ile ilgili veri ve görüşler kapsamında tartışıldı.

Beyinde oluşturduğu çeşitli etkilerin yaygın biçimde araştırıldığı çalışmalarda, oksitosin akut veya kronik olarak ventriküllere (Arletti ve ark. 1993; Diaz-Cabiale ve ark. 2000; Donhoffner ve ark. 2016), çekirdeklere (Baracz ve ark. 2015) ve sisternaya (Caldwell ve ark. 1987) veya subaraknoidal aralığa (Condés-Lara ve ark. 2006) yerel olarak uygulanmış veya burun (Karpova ve ark. 2016; Lee ve ark. 2018), ven (Lee ve ark. 2018) veya periton (Ring ve ark. 2006; Klenerova ve ark. 2009; Carson ve ark. 2010; Abbasnezhad ve ark. 2016) içine veya deri altına (Gard ve ark. 2007) sistemik olarak verilmiştir. Peptid olduğu için molekülünün büyüklüğü ve hidrofilik yapısı nedeni ile oksitosinin kan beyin engelini önemsiz miktarlarda aşabileceği öne sürülmüştür (Ermisch ve ark. 1985). Ancak, periferden yapılan uygulamalarda beyin omurilik sıvısında oksitosin düzeyinin yükseldiği gösterilmiştir (Neumann ve ark. 2013; Striepens ve ark. 2013). Bu bulgunun, supraoptik ve paraventriküler çekirdek gibi oksitosin sentezinin olduğu bölgelerde artmış c-FOS ekspresyonu sonucu salıverilmedeki bir artışa bağlı olabileceği öne sürülmüştür (Carson ve ark. 2010). Çok yeni bir çalışmanın bulguları ise burun veya ven içi yol ile oksitosin verilen maymunlarda (makaklarda) beyin omurilik sıvısında saptanan oksitosin düzeyindeki artışın endojen oksitosin artışına bağlı olmadığını ortaya koymuştur (Lee ve ark. 2018). Öte yandan, sistemik uygulamalarda davranışsal ve hücrel değişiklikler de yeterli miktarlarda oksitosinin beyne geçtiğinin kanıtı olarak değerlendirilmiştir (Grippo ve ark. 2009; Klenerova ve ark. 2009; Carson ve ark. 2010). Oksitosin sistemik uygulamada genellikle sıçanlarda 0,05-2 (Klenerova ve ark. 2009; Carson ve ark. 2010) ve farelerde 0,25-10 (Ring ve ark. 2006; Gard ve ark. 2007; Sinclair ve ark. 2015) mg/kg doz aralığında kullanılmıştır. Bu çalışmada, Petersson ve ark. (1996; 1998)'nın

kullandığı yönteme uygun olarak oksitosin sıçanlara deri altı yolu ile 1 mg/kg dozunda verildi. Günde bir kez olmak üzere uygulamalar 5 gün sürdü. Son dozdan bir gün sonra ölçümlere başlandı. Oksitosin ağırlık kaybına yol açtığı için başlangıçta ve enjeksiyonlar bittikten sonra hayvanlar tartıldı (Blevins ve Ho 2013). Ağırlı uyarana yanıt, kızgın levha ve kuyruk daldırma testleri kullanılarak ölçüldü. Kızgın levha testinde yanıtın hem spinal hem de supraspinal mekanizmalar aracılığı ile ortaya çıktığı (Vicente-Rodríguez ve ark. 2013), daha çok supraspinal yanıtı gösterdiği, kuyruk daldırma testinin daha çok spinal motor refleksleri içerdiği öne sürülmüştür (Morgan ve ark 1989; Caggiula ve ark. 1995; Langerman ve ark. 1995; South ve Smith 1998; Lilius ve ark. 2009; Vicente-Rodríguez ve ark. 2013). Bu nedenle, pek çok çalışmada olduğu gibi 2 test ard arda uygulandı (Tejwani ve ark. 1993; Caggiula ve ark. 1995; Langerman ve ark. 1995; South ve Smith 1998; Lilius ve ark. 2009). Deney 1 ve Deney 2a'da ayak ve kuyruk çekme süreleri kullanılarak ağrı eşiği değerlendirildi. Morfinin analjezik etkilerinin değerlendirildiği Deney 2b'de ve klonidinin analjezik etkilerinin değerlendirildiği Deney 4'te benzer çalışmalarda olduğu gibi drog uygulamalarından önceki ve sonraki ayak ve kuyruk çekme süreleri değerleri ile hesaplanan %MPE kullanıldı (Tejwani ve ark. 1993; Ozdogan ve ark. 2004).

Beş gün serum fizyolojik veya oksitosin uygulamasından bir gün sonra yapılan tartımlarda, başlangıç ölçümlerine göre kontrol grubunda ağırlık artışı, oksitosin grubunda ağırlık kaybı saptandı. Bu bulgu, Petersson ve ark. (2005b)'nın oksitosin uyguladıkları hayvanlardaki ağırlık kaybı gözlemleri ile uyum gösterdi. Oksitosinin nörotransmitter veya nöromodülatör olarak iştah azaltıcı ve artırıcı sinyalleri ve enerji dengesini düzenlediği ve mide boşalma ve mide-bağırsak geçiş sürelerini kısalttığı, böylece santral ve periferik mekanizmalar ile yem alımını azalttığı öne sürülmüştür (Blevins ve Ho 2013). Arletti ve ark. (1989) periton içi veya ventrikül içi oksitosin verdikleri sıçanlarda yem tüketiminin ve yeme süresinin azaldığını, 21 saat açlıktan sonra ilk yemeye kadar geçen sürenin arttığını göstermişlerdir. Daha sonra yapılan çalışmalarda da benzer sonuçlara ulaşılmıştır (Morton ve ark. 2012; Herisson ve ark. 2016). Bireysel barındırma gerektirdiği için uygulama sürecinde yem tüketimi ölçülmediğinden oksitosin grubundaki ağırlık kaybının yem alımının azalmasına bağlı olup olmadığı bilinmemektedir.

Deney 1’de 5 gün serum fizyolojik veya oksitosin uygulamalarından 1 gün sonra yapılan ölçümlerde, oksitosin verilen hayvanlarda kuyruk daldırma testinde anlamlı bir değişiklik olmamasına karşın kızgın levha testinde ayak çekme süresi daha uzun bulundu. Doğrudan beyne veya intratekal olarak omuriliğe yapılan yerel uygulamalarda (Caldwell ve ark. 1987; Arletti ve ark. 1993; Condés-Lara ve ark. 2006) veya periton içi sistemik uygulamalarda (Arletti ve ark. 1993; Xu ve ark. 1994; Abbasnezhad ve ark. 2016) akut oksitosin verilen fare ve sıçanlarda kızgın levha ve kuyruk daldırma testlerinde antinosisseptif etki ortaya konmuştur. Oksitosinin modülatör olarak çeşitli mekanizmalar aracılığı ile analjezik etki sağladığı öne sürülmüştür (González-Hernández 2014). Sıçanlara intratekal olarak verilmesinin omurilikte beta endorfin, lösin enkefalin ve dinorfin düzeylerini artırdığı gösterilmiştir (Yang 1994). Ancak antinosisseptif etkisinde endojen opioid peptidlerin katkısına ilişkin veriler tartışmalıdır (Caldwell ve ark. 1987; Arletti ve ark. 1993; Kang ve Park 2000). Petersson ve ark. (1996; 2005b) 5 gün 0,1 veya 1 mg/kg oksitosin uyguladıkları sıçanlarda son dozdan 1 ve 7 gün sonra ve 10 gün 1 mg/kg oksitosin uyguladıkları overleri çıkartılmış dişi sıçanlarda son dozdan 3 ve 4 gün sonra nosisseptif eşikte artış göstermişlerdir. Yarılanma ömrü çok kısa olduğu (Vane ve Williams, 1974) için oksitosinin bir haftaya uzayan bu etkiden doğrudan sorumlu olamayacağı, opioid sentez ve salıverilmesindeki veya alfa-2 adrenerjik reseptör yanıt veririğindeki artış gibi ikincil mekanizmalara bağlı olarak ağrı eşiğinin arttığı öne sürülmüştür (Petersson ve ark. 1996; 1999). Bu görüşlere göre oksitosin verilen hayvanlarda kızgın levha testi ile ortaya konan antinosisseptif etkinin mekanizması, oksitosinin akut etkilerinden bağımsız olup tekrarlayan uygulaması sonrası ortaya çıkan endojen opioidderjik veya adrenerjik sistemlerdeki değişikliklere bağlanabilir. Kızgın levha testi daha çok supraspinal yanıt ile ilişkilendirildiğinden, ağrı eşiğindeki yükselmenin yüksek beyin işlevlerini içeren sistemlerdeki değişiklikleri yansıttığı ileri sürülebilir. Bununla birlikte, araştırmacılar oksitosin uyguladıkları hayvanlarda antinosisseptif etkiyi, spinal etkiyi yansıttığı öne sürülen kuyruk daldırma testinde gösterdiklerinden (Petersson ve ark. 1996), iki çalışmanın farklı sonuçlarını etkinin oluşum yerine göre değil de hayvanlar arasındaki ay ve ağırlık farkları veya deney ortamlarına özgü değişikliklere bağlayabilmek daha uygun görünmektedir.

Morfine tolerans gelişiminde ağrı eşiği yanı sıra vücut sıcaklığına etkinin değerlendirilmesi de çalışmanın amaçları arasında olduğundan, serum fizyolojik veya oksitosin uygulanan hayvanlarda antinosisseptif testlerin ardından vücut sıcaklıkları

ölçüldü. İki grup arasında anlamlı bir fark bulunamadı. Oksitosinin vücut sıcaklığının düzenlenmesine katkıda bulunduğu gösterilmiştir (Hicks ve ark. 2014). Ancak, elde edilen sonuç oksitosinin doğrudan etkisini değil tekrarlayan uygulamasına bağlı değişiklikleri yansıtmaktadır. Opioiderjik sistem (Geller ve ark. 1986) yanı sıra noradrenerjik sistem de vücut sıcaklığının düzenlenmesine katkıda bulunduğundan (Fukushima 1975; Höcker ve ark. 2010), 5 gün oksitosin uygulamasının vücut sıcaklığını etkileyebilecek düzeyde endojen opioid salıverilmesine veya alfa-2 adrenerjik reseptör duyarlılığı artışına yol açmadığı öne sürülebilir.

Deney 2a'da serum fizyolojik veya oksitosin uygulandıktan 1 gün sonra ağrı eşiği ve vücut sıcaklıkları ölçülen ve ardından plasebo veya morfin peleti konulan hayvanlarda morfinin ağrı eşiğine etkisinin zamana göre seyrinin değerlendirilmesi, kontrol-morfin grubunda antinosiseptif yanıtın kızgın levha testinde 4 ve 24 saat sonra belirgin olduğunu, 48 saat sonra kontrol-plasebo grubu değerlerine indiğini gösterdi. Kuyruk daldırma testinde ise 4 ve 24 saat yanı sıra 48 saat sonra da belirgin antinosiseptif etki ortaya çıktı. Kızgın levha testinde 4 saat sonraki ölçüme göre 24 saat sonra ve kuyruk daldırma testinde 4 ve 24 saat sonraki ölçümlere göre 48 saat sonra antinosiseptif yanıt azaldı. Morfinin analjezik etkisinin kızgın levha testinde 24 saat sonra azalması ve 48 saat sonra kaybolması, kuyruk daldırma testinde ise 48 saat sonra azalmış olsa da varlığını sürdürmesi, peletlerden morfin salıverilmesindeki azalmaya eşlik eden kan düzeylerindeki düşme (Yoburn ve ark. 1985) ve/veya tolerans gelişimi (Patrick ve ark. 1975; Smith ve ark. 2006; Yuill ve ark. 2016) ile ilişkilendirilebilir. Yoburn ve ark. (1985) 75 mg baz morfin içeren 2 adet pelet konulan sıçanlarda farmakokinetik ve farmakodinamik değişikliklerin zamana göre seyrini araştırdıkları çalışmalarında, plazma morfin konsantrasyonun 4-6 saat sonra doruğa çıktığını, 36 saat sonra kararlı düzeye ulaştığını ve 72. saate kadar bu düzeyi koruduğunu, kuyruk daldırma testinde ise antinosiseptif etkinin 4.-6. saatler arasında doruğa çıktığını ve 36. saatte bazal değerlere düştüğünü, morfin toleransının hızlı geliştiğini bildirmişlerdir. Hepburn ve ark. (1997) aynı sayı ve miktarda morfin peleti konulan sıçanlarda kuyruk daldırma testinde antinosiseptif etkinin 6 saat sonra doruğa çıktığını, tolerans gelişimine bağlı olarak 24 saat sonra azaldığını ve 48 saat sonra kontrol değerlerine düştüğünü ifade etmişlerdir. Kang ve ark. (2017) ise 75 mg morfin içeren tek pelet konulan farelerde kuyruk daldırma testinde toleransın 48 saat sonra geliştiğini göstermişlerdir. Bu araştırmacıların bulguları ile kızgın levha testinin bulguları tamamen, kuyruk

daldırma testinin bulguları ise kısmen örtüşmektedir. Periton içi enjeksiyon ile morfin verilen farelerde kızgın levha ve kuyruk çekme yanıtlarının morfine eşit duyarlılıkta olduğu gösterilmiştir (Piersey ve Schroeder 1981). Buna karşılık, deri altı enjeksiyon ile morfin verilen sıçanlarda kuyruk çekme yanıtı, ayak çekme yanıtına göre morfine daha duyarlı bulunmuştur (Gardmark ve ark. 1998). Bu nedenle, kuyruk daldırma testinde antinosiseptif etkideki zamana ve tolerans gelişimine bağlı değişiklikler ile ilgili bulguların, yani antinosiseptif etkinin şiddetinin 24 saat sonra azalmamasının ve 48 saat sonra sürmesinin, teste duyarlılık farkına bağlı olabileceği öne sürülebilir. Oksitosin-morfin grubunda da kızgın levha ve kuyruk daldırma testlerinde 4 ve 24 saat sonra belirgin antinosiseptif etki ortaya çıktı. İki testte de etki 24 saat sonra azaldı. Kontrol-morfin grubu ile karşılaştırıldığında, 5 gün oksitosin uygulaması antinosiseptif etkinin şiddetinde ve zamana göre azalmasında kızgın levha testinde bir farka yol açmadı. Kuyruk daldırma testinde ise etkinin şiddetinde bir değişiklik oluşturmazken, 48 saat sonraki ölçümde etkinin ortaya çıkmasını önleyerek morfinin analjezik etkisine tolerans gelişimini belirgin hale getirdi (Şekil 4-3). Oysa oksitosin uygulamasına bağlı olası endojen opioidlerjik etkinlik artışının aditif etkileşme ile morfinin etkisini güçlendirmesi, analjezik etkideki azalmayı önlemesi (Shokraviyan ve ark. 2014), bekleniyordu. Kronik morfin uygulamasında analjezik etkiye tolerans gelişmesinin mekanizmaları karmaşık ve tamamen anlaşılamamıştır (Garzón ve ark. 2012; Bao ve ark. 2015). Noradrenerjik sistem morfinin analjezik etkisinde önemli rol oynar; alfa-2 adrenerjik reseptörlerin uyarılması analjezik etkiyi güçlendirir (Spaulding ve ark. 1975). Deney hayvanlarında spinal (Gursoy ve ark. 2011) ve supraspinal (Sagen ve Proudfit 1985) düzeyde noradrenerjik ve opioidlerjik sistem arasında alfa-2 adrenerjik reseptör aracılı sinerjizma olduğu gösterilmiştir. Alfa-2 adrenerjik reseptörlerin opioid toleransında rollerinin olmadığı öne sürülmüşse (Fiorillo ve Williams 1996) de morfine tolerans gelişen sıçanların çeşitli beyin bölgelerinde sayısal ve işlevsel değişiklikler gösterdikleri (Smith ve ark. 1989), kobayların serebral kortikal kesitlerinde işlevselliklerinde azalma ve klonidine duyarlılıklarında artış olduğu (Tomasini ve ark. 1992) ve agonistlerinin toleransın açığa çıkışını azalttıkları (Gursoy ve ark. 2011) bildirilmiştir. Sonuç olarak, oksitosin-morfin grubunda analjezik etkiye toleransın güçlenmesini alfa-2 adrenerjik reseptör duyarlılığı artışı ile açıklamak mevcut literatüre zıtlık oluşturmaktadır. Öte yandan, oksitosin verilen hayvanlarda ağrı eşiğindeki yükselme 7 gün sürmesine karşın oksitosin-plasebo grubunda kızgın levha ve kuyruk

daldırma testlerinde 3 zaman diliminde de antinosiseptif etki saptanamadı (Petersson ve ark. 1996). Bir diğer deyişle, son dozdan 1 gün sonra saptanan antinosiseptif etki daha sonraki günlerde ortaya çıkmadı. İlgi çekici olarak kızgın levha testinde 24 saat sonra ayak çekme süresi 4 saat sonraki ölçüme göre azaldı. Bazı çalışmalarda, kısa zaman dilimi içinde tekrarlayan ağrı eşiği ölçümlerinde öğrenmeye bağlı erken yanıt oluşumu olasılığı tartışılmıştır (King ve ark. 1997; Gunn ve ark. 2011). Oksitosin grubunda tek bir zaman diliminde ortaya çıkan bu etkiyi öğrenmeye bağlayabilmek için çalışmada yeterli veri bulunmamaktadır.

Plasebo veya morfin peleti konulan hayvanlarda vücut sıcaklığına etkinin zamana göre seyrinin değerlendirilmesi, kontrol-morfin grubunda 4 saat sonra artış olduğunu, 24 ve 48 saat sonra değişiklik olmadığını gösterdi. Morfin beklenenin aksine hipotermi yerine hipertermi oluşturdu. Morfinin vücut sıcaklığı düzenlenme mekanizmalarına bifazik etkisinin olduğu, damar çapını değiştirerek veya hipotalamusta ısı düzenleme merkezini etkileyerek düşük dozda hipertermi, yüksek dozda hipotermi yaptığı gösterilmiştir (Cox ve ark. 1976; Clark ve ark. 1983; El Bitar ve ark. 2016). Morfine hipertermi yanıtında mü opioid reseptörlerin uyarılmasının, hipotermi yanıtında ise kappa reseptörlerin uyarılmasının sorumlu olduğu bildirilmiştir (Rawls ve Benamar 2011). Bu verilere göre morfin peleti konulan hayvanlarda vücut sıcaklığında 4 saat sonra ortaya çıkan artışın düşük doz morfin etkisini yansıttığı ileri sürülebilir. Öte yandan, 24 ve 48 saat sonra vücut sıcaklığının kontrol-plasebo grubundan farksız olması etkiye karşı gelişen toleransın hızlı olması verilerini desteklemektedir (Rosow ve ark. 1982; Mucha ve ark. 1987). Oksitosin-morfin grubunda da, kontrol-morfin grubunda olduğu gibi 4 saat sonra vücut sıcaklığı daha yüksek oldu. Ancak iki grubun değerleri karşılaştırıldığında, oksitosinin etkisi olarak nitelendirilecek bir fark bulunamadı. Buna karşın, kontrol-morfin grubundan farklı olarak 24 ve 48 saat sonraki vücut sıcaklığı 4 saat sonraki vücut sıcaklığından anlamlı olarak daha az oldu. Morfinin hipertermik etkisine daha belirgin tolerans gelişmesi olarak yorumlanabilecek bu bulgu Deney 2a'da analjezik etkiye toleransın güçlenmesi bulgusu ile koşutluk gösterdi. Kontrol-plasebo ve oksitosin-plasebo gruplarındaki hayvanların vücut sıcaklıklarında bir farkın bulunamaması da Deney 1'deki bulguları destekledi. Öte yandan, kontrol-plasebo grubunda vücut sıcaklığı 24 saat sonra artış gösterdi, 48 saat sonra 4 saat sonraki değerlere düştü. Stres vücut sıcaklığını artırabildiğinden (van der Heyden ve ark. 1997), bu bulgu kontrol-plasebo grubunda tekrarlayan ölçümlere bağlı stresi yansıtabilir. Diğer

gruplarda morfinin sakinleştirici veya oksitosinin “antistres” (Petersson ve ark. 1998; 1999) etkileri deney koşullarının stres oluşturuucu etkilerini azaltmış olabilir.

Deney 2b’de plasebo veya morfin peleti konulan hayvanlarda 48 saat sonraki ölçümlerin ardından ek doz morfin verilerek yapılan değerlendirmelerde, kontrol-morfin grubunda kızgın levha testinde ayak çekme süresi daha kısa bulundu. Morfinin analjezik etkisine tolerans gelişiminin göstergesi olan bu azalmış antinosiseptif yanıt pelet (Hepburn 1997; Smith ve ark. 2006; Kang ve ark. 2011) veya diğer kronik morfin uygulamalarında (Chavooshi ve ark. 2009; Lilius ve ark. 2009) ek doz morfine aynı yanıtı elde eden pek çok araştırmacının bulguları ile uyum gösterdi. Kuyruk daldırma testinde ise tolerans gelişimi ortaya konulamadı. Bu farklı sonuç, morfinin etkisinin 48 saat sonra kızgın levha testinde kaybolurken kuyruk daldırma testinde sürmesi ile ilişkili olabilir (Şekil 4-3). Bununla birlikte, morfin peleti konulan fare ve sıçanlarda kuyruk daldırma testinin tek başına (Bhargava 1988; Kang ve ark. 2017) veya kızgın levha (Smith ve ark. 2006) veya asetik asit kıvrınma (Kang ve ark. 2017) testleri ile birlikte değerlendirildiği, analjezik etkiye ek doz morfin verilerek belirgin tolerans geliştiğinin gösterildiği çalışmalar desteklenemedi. Öte yandan, oksitosin-morfin grubunda 2 testte de antinosiseptif etki daha az oldu. Kızgın levha testindeki azalmanın kontrol-morfin grubundan farksız olması tolerans gelişiminin engellenemediğini gösterdi. Kuyruk daldırma testinde ise kontrol-morfin grubundan farklı olarak, tolerans lehine bir bulgunun elde edilmesi tolerans gelişiminin güçlendiğini ortaya koydu. Bu sonuç, ek doz morfin verilmeden önce yapılan ölçümde saptanan benzer etki ile tutarlılık gösterdi (Şekil 4-3). Ancak, iki testte ortaya çıkan etkiler beklenenin aksine tekrarlayan oksitosin uygulamasının morfine tolerans gelişimini engelleyebileceği görüşüne destek oluşturamadı.

Vücut sıcaklığına tolerans gelişimini değerlendirmek için ek doz morfin verildikten sonra yapılan ölçümlerde varyans analizi gruplar arasında bir farkın bulunmadığını gösterdi. Bu nedenle, kontrol-morfin grubunda 4 saat sonra saptanan hipertermi yanıtına 24 ve 48 saatte gelişen tolerans, ek doz morfin uygulamasında desteklenemedi. Akut oksitosinin etanolün hipotermik etkisine tolerans gelişmesini önlediği gösterilmiştir (Szabó ve ark. 1985). Tekrarlayan oksitosin uygulamasına bağlı dolaylı etkiler ise morfinin hipertermik etkisine tolerans gelişimini etkileyemedi.

Deney 3'te plasebo veya morfin peleti konulan hayvanlara 48 saat sonraki ölçümlerin ardından nalokson verilmesi morfin gruplarında ağırlık kaybı, sıçrama, ıslak köpek silkelmesi ve diğer belirtiler olarak biraraya getirilen şahlanma, diş gıcırdatma, ejakülasyon, ürinasyon, karın uzatma, ishal, defekasyon, göz kapağı düşmesi, dokunmaya ses ile yanıt, elektriklenme ve kılların diklenmesi şeklinde yoksunluk belirtilerine yol açtı. Belirtiler, 1 veya 2 adet 75 mg morfin peleti konulan ve farklı dozlarda nalokson verilen sıçanlarda ortaya çıkan yoksunluk belirtileri ile şiddet olarak farklı ancak nitelik olarak aynı oldu (Pintér-Kübler ve ark. 2013; Caille ve ark. 1999; Koyuncuoğlu ve ark. 1999; Bhargava 1988; Hepburn ve ark. 1997). Morfin yoksunluğunda belirtilerin şiddeti, bağımlılık gelişme derecesinin göstergesi olarak değerlendirilir (Huffman ve ark. 1985) ve opioid antagonisti nalokson (Fdez Espejo ve ark. 1995) ve naltrekson (Bristow ve ark. 1997) dozu ile orantılı artış gösterir. Hepburn ve ark. (1997), pelet sayısı ve pelet sonrası tolerans gelişimi değerlendirme aşamaları bire bir aynı olan çalışmalarında, nalokson ile oluşturdukları yoksunluk tablosunda ağırlık kaybı, göz kapağı düşmesi, ayak vurma, salya akışı, ıslak köpek silkelmesi, ishal, dokunmaya duyarlılık ve burun akıntısı olduğunu bildirmişlerdir. Araştırmacılar daha yüksek dozda (5 mg/kg) nalokson kullandıkları için daha şiddetli yoksunluk tablosu izlemişlerdir. Oksitosin verilen hayvanlarda yoksunluk oluşumunun azalabileceği ve/veya klonidinin etkisinin güçlenebileceği öngörülerini daha iyi değerlendirebilmek için şiddetli yoksunluk tablosundan kaçınmak amacı ile çalışmada nalokson dozu düşük tutuldu. Bulgulara göre kontrol- morfin grubunda ağırlık kaybı ve ıslak köpek silkelmesi kontrol-plasebo grubuna göre anlamlı fark gösterdi. Oksitosin-morfin grubunda ise ağırlık kaybı yoksunluk tablosunda tek anlamlı bulguyu oluşturdu. Morfin yoksunluğunda en duyarlı fiziksel belirtinin ağırlık kaybı olduğu, ıslak köpek silkelmesi ve sıçramanın orta şiddette yoksunluk göstergeleri olduğu öne sürülmüştür (Fdez Espejo ve ark. 1995). Oksitosin-morfin grubunda ıslak köpek silkelmesinin olmaması yoksunluğun daha hafif olduğuna işaret etmektedir. Bu sonuç, yoksunluk tablosunu etkileyecek kadar opioid salıverilmesinin ortaya çıkmış olmasına bağlanabilir. Öte yandan, klonidin, kontrol-morfin grubunda ağırlık kaybında ve ıslak köpek silkelmesinde bir değişiklik oluşturmadı, ancak sıçramayı artırdı. Benzer etki oksitosin-morfin grubunda da ortaya çıktı, klonidin verilmesi ağırlık kaybını etkilemezken sıçramayı artırdı. Morfin bağımlılığının gelişiminde en fazla araştırılan alan olan locus coeruleus'ta (Nestler ve ark. 1994) alfa-2 adrenerjik reseptörlerde

işlevsel değişikliklerin olduğu (Smith ve ark. 1989), nalokson ile oluşan yoksunlukta klonidinin noradrenerjik nöronlarda artan ateşleme hızını geriye döndürdüğü (Crawley 1979) ve yoksunluk belirtilerini baskıladığı (Britton ve ark. 1984; Allahverdiyev ve ark. 2015; Moayeri ve ark. 2018) gösterilmiştir. Çoğu araştırmacı, klonidinin sıçanlarda nalokson ile oluşturulan yoksunluk sendromunda ağırlık kaybını ve ıslak köpek silkelenmesini azaltırken sıçramayı artırdığını bildirmişlerdir (Tseng ve ark. 1975; Romandini ve ark. 1984; Sharif ve El-Kadi 1996). Kontrol-morfin ve oksitosin-morfin gruplarında klonidin ile elde edilen bulguların, bu çalışmaların ağırlık kaybı sonuçları ile uyumsuz olmasını yorumlayabilmek oldukça zor görünmektedir. Öte yandan sıçrama sonuçları tutarlıdır. Klonidin sıçramanın ortaya çıkışını kolaylaştırmış ve istatistiksel olarak anlamlı hale gelmesini sağlamıştır. Ancak, oksitosin-morfin grubunda sıçrama sayısı, kontrol-morfin grubundan daha fazla olmamış ve klonidinin sıçramayı alfa-2 adrenerjik reseptörler aracılığı ile artırdığı öne sürüldüğünden, reseptörlerde duyarlılık artışına delil oluşturulamamıştır (Tseng ve ark. 1975; Sharif ve El-Kadi 1996; Ozdoğan ve ark. 2004). Klonidin, alfa-2 adrenerjik reseptörler yanı sıra imidazolin (Ernsberger ve ark. 1990) ve yüksek dozlarda postsinaptik yerleşim gösteren alfa-1 adrenerjik (Andén ve ark. 1970) reseptörleri uyarır. Bazı araştırmacılara göre klonidin, sıçramayı imidazolin reseptörleri (Sharif ve El-Kadi 1996) veya alfa-1 adrenerjik reseptörler (Nishikawa ve ark. 1983) aracılığı ile artırmaktadır. Bu iddialar bulguların yorumlanmasını zorlaştırmaktadır.

Deney 4'te serum fizyolojik veya oksitosin uygulanmasından 1 gün sonra pelet konulan ve 48 saat sonraki ölçümlerin ardından deney için ayrılan hayvanlara klonidin uygulanması, kontrol-plasebo grubunda kızgın levha ve kuyruk daldırma testlerinde ağırlı uyarana yanıtta anlamlı bir değişiklik oluşturmadı. Noradrenerjik sinir uçlarında otoreseptör olarak işlev gören alfa-2 adrenerjik reseptörlerin klonidin (Shirokawa ve ark. 2003) ve benzeri agonistler (Fink ve Göther 1993) tarafından uyarılmaları sinir ucundan noradrenalin salıverilmesini azaltır. Bu reseptörler hem spinal (Yaksh 1985) hem de supraspinal (Guo ve ark. 1996) düzeyde ağrı oluşumunun azalmasında rol oynar. Bu nedenle, kızgın levha ve kuyruk daldırma testlerinde, alfa-2 adrenerjik reseptör agonistleri klonidin (Sudo ve ark. 2017; Galeotti ve ark. 1999; Milne ve ark. 2011; Vincente-Rodríguez ve ark. 2013) ve deksmedetomidin (Idanpaan-Heikkilä ve ark. 1994) ve alfa-2 adrenerjik reseptör antagonistleri yohimbin ve fentolamin (Sagen ve Proudfit 1984) nosiseptif uyarana yanıtı sırası ile azaltır veya artırır. Kontrol-plasebo

grubunda bu çalışmalara uyum sağlayamayan bulgu elde edilmesinde, klonidinin etkisini değerlendirmeden önceki sürecin stres yaratabilecek işlemleri ve tekrarlayan ölçümleri rol oynamış olabilir. Öte yandan klonidin, oksitosin-plasebo grubunda kızgın levha testinde bir değişiklik oluşturmazken kuyruk daldırma testinde ağrı eşiğini yükselterek analjezi sağladı. Oksitosinin son dozundan 3 gün sonra klonidinin serum fizyolojik uygulanmasına göre daha güçlü analjezik etkiye yol açtığını gösteren bu bulgu (Şekil 4-5), Petersson ve ark. (1996)'nın kuyruk daldırma testinde ağrı eşiğindeki yükselmenin 7 gün sürdüğüne ilişkin verilerini destekledi. Bu dönemde antinosiseptif etkiye eşlik eden düşük kan basıncının ve sedasyonun deri altı veya ventrikül içi verilen klonidin ile güçlenmesine dayanarak oksitosinin beyindeki alfa-2 adrenoseptörler ile etkileşebildiğini ileri süren Petersson ve ark. (1998), uyanç reaksiyonları ve kardiyovasküler kontrol ile ilgili görevleri nedeni ile locus coeruleus'ta nöronal aktivitenin nasıl değiştiğini tek hücre kayıt tekniği ile araştırmışlardır. Bulgularına göre son oksitosin dozundan 2 gün sonra kontrol ve oksitosin gruplarında spontan nöronal ateşleme hızında fark ortaya çıkmamış, ancak klonidin verilmesi sonrası oksitosin grubunda ateşleme hızı daha fazla düşmüştür. Klonidinin inhibitör etkisine karşı artmış duyarlılık, oksitosin uygulamasının locus coeruleus'ta alfa-2 adrenoseptör yanıtverirliliğinde artışa yol açtığına ilişkin öngörülerine fizyolojik kanıt oluşturmuştur. Beş gün oksitosin uygulamasından 3 gün sonra öldürülen sıçanların beyinlerinde hipotalamus, amigdala ve paraventriküler talamik çekirdekte alfa-2 agonist bağlanma yerlerinde B_{max} değerlerinin arttığını gösteren bulgular da elektrofizyolojik veriler ile koşutluk göstermiştir. Oksitosin verilen hayvanlarda kuyruk daldırma testinde klonidinin ağrı eşiğini yükseltmesi de bu çalışmaları ek destek niteliğindedir.

Ağrılı uyarana yanıt testlerinden sonra yapılan ölçümlerde klonidin kontrol-plasebo grubunda vücut sıcaklığında bir değişikliğe neden olmadı. Periton içi veya deri altı 0,05-2 mg/kg klonidin verilen sıçanlarda hipotermi saptanmıştır (O'Donnell ve ark. 1996; Bhalla ve ark. 2011). Bu etkinin alfa-2 adrenerjik reseptörler aracılığı ile oluştuğu gösterilmiştir (Bhalla ve ark. 2011). Çalışmada kullanılan 0,2 mg/kg klonidin dozunun hipotermi oluşturan doz aralığında olmasına karşın etkisiz kalmış olması, ağrı eşiğinde de öne sürüldüğü gibi etkiyi değerlendirmeden önceki süreçteki stres oluşturabilecek deney koşullarına bağlı olabilir. Aynı koşullara maruz kalan oksitosin-plasebo grubunda ise klonidin hipotermiye yol açtı. Oksitosin verilen hayvanlarda plazma kortikosteron düzeyinde ve kan basıncında düşmenin bir "antistres" durumunu yansıttığı öne

sürülmüştür (Petersson ve ark. 1998, 1999). Bu durumun oksitosin-plasebo grubunda klonidinin hipotermik etkisinin ortaya çıkmasını kolaylaştırdığı iddia edilebilir. Ancak, “antistres” etki de alfa-2 adrenerjik reseptörlerde duyarlılık artışı ile ilişkilendirilmiştir (Díaz-Cabiale ve ark. 2000).

Sonuç olarak; 5 gün oksitosin uygulanan hayvanlarda son dozdan 1 gün sonra ağrı eşiğinde yükselme, ağrı eşiğinde ve vücut sıcaklığında klonidine yanıt artışı ve morfin yoksunluğu belirtilerinde kısmi azalma endojen opioid peptid ve/veya alfa-2 adrenoseptör duyarlılığı artışına ilişkin iddia ve bulguları destekler niteliktedir. Öte yandan, ağrı eşiğindeki yükselmenin diğer günlerde sürmemesi, morfinin analjezik etkisine tolerans gelişmesinin güçlenmesi ve yoksunluk belirtilerinde klonidine yanıtta belirgin farkın ortaya çıkmaması beklentilere uygun bulgular değildir. Bazı gruplarda denek sayısının az olması ve sadece davranışsal değişikliklerin ölçülmesi ile yetinilmesi çalışmanın sınırlılıklarını oluşturmuştur. Endojen peptidlerin düzeyindeki veya mü reseptörlerinin duyarlılığındaki değişikliklerin ölçülmesi çalışmanın varsayımının sınanmasını güçlendirebilirdi. Ancak, bu ölçümler uzmanlık ve yoğun emek gerektirmektedir. Bu nedenle, daha yüksek dozlarda oksitosin veya oksitosin reseptör agonisti, farklı dozlarda klonidin veya alfa-2 adrenoseptör antagonist ya da opioidergik sistemi etkileyen agonist ve antagonist kullanılarak yapılacak yeni çalışmalar, tekrarlayan oksitosin uygulamasına bağlı dolaylı opioidergik ve alfa-2 adrenerjik etkinlik artışının morfine tolerans ve bağımlılık gelişmesinin önlenmesindeki rolünü belirginleştirebilir.

KAYNAKLAR

- Abbasnezhad**, A., Khazdair, M.R. ve Kianmehr, M. (2016). The role of nitric oxide on the oxytocin induce analgesia in mice. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, **19**, 238-244.
- Andén**, N.E., Corrodi, H., Fuxe, K., Hökfelt, B., Hökfelt, T., Rydin, C. ve ark. (1970). Evidence for a central noradrenaline receptor stimulation by clonidine. *Life Science*, **19**, 513-523.
- Arletti**, R., Benelli, A. ve Bertolini, A. (1989). Influence of oxytocin on feeding behavior in the rat. *Peptides*, **10**, 89-93.
- Arletti**, R., Benelli, A. ve Bertolini, A. (1993). Influence of oxytocin on nociception and morphine antinociception. *Neuropeptides*, **24**, 125-129.
- Bannon**, A.W. ve Malmberg A.B. (2007). Models of nociception: hot plate, tail flick, and formalin tests in rodents. *Current Protocols in Neuroscience*, **41**, Unit 8.9.
- Bao**, Y., Gao, Y., Yang, L., Kong, X., Yu, J., Hou, W. ve ark. (2015). The mechanism of μ -opioid receptor (MOR)-TRPV1 crosstalk in TRPV1 activation involves morphine anti-nociception, tolerance and dependence. *Channels (Austin)*, **9**, 235-243.
- Baracz**, S.J., Everett, N.A. ve Cornish, J.L. (2015). The involvement of oxytocin in the subthalamic nucleus on relapse to metamphetamine-seeking behaviour. *PLoS One*, **10**, e0136132.
- Barrot**, M. (2012). Tests and models of nociception and pain in rodents. *Neuroscience*, **211**, 39-50.
- Bhalla**, S., Andurkar, S.V. ve Gulati, A. (2011). Study of adrenergic, imidazoline, and endothelin receptors in clonidine-, morphine-, and oxycodone-induced changes in rat body temperature. *Pharmacology*, **87**, 169-179.
- Bhargava**, H.N. (1988). Intragastric administration of cyclo(Leu-Gly) inhibits the development of tolerance to the analgesic effect of morphine in the rat. *Life Science*, **43**, 187-192.
- Blevins**, J.E. ve Ho, J.M. (2013). Role of oxytocin signaling in the regulation of body weight. *Reviews in Endocrin & Metabolic Disorders*, **14**, 311-329.

- Bodnar**, R.J. (2018). Endogenous opiates and behavior: 2016. *Peptides*, **101**, 167-212.
- Boutet**, C., Vercueil, L. Schelstraete, C., Buffin, A. ve Legros, J.J. (2006). Oxytocin and maternal stress during the post-partum period. *Annales d'Endocrinologie*, **67**, 214-223.
- 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.
- Bristow**, L.J., Hogg, J.E. ve Hutson, P.E. (1997). Competitive and glycine/NMDA receptor antagonists attenuate withdrawal-induced behaviours and increased hippocampal acetylcholine efflux in morphine-dependent rats. *Neuropharmacology*, **36**, 241-250.
- Brown**, C.H. ve Russell, J.A. (2004). Cellular mechanisms underlying neuronal excitability during morphine withdrawal in physical dependence: lessons from the magnocellular oxytocin system. *Stress*, **7**, 97-107.
- Brown**, C.H., Stern, J.E., Jackson, K.L.M., Bull, P.M., Leng, G. ve Russell, J.A. (2005). Morphine withdrawal increases intrinsic excitability of oxytocin neurons in morphine-dependent rats. *The European Journal of Neuroscience*, **21**, 501-512.
- Brück**, K. ve Zeisberger, E. (1987). Adaptive changes in thermoregulation and their pharmacological basis. *Pharmacology & Therapeutics*, **35**, 163-215.
- Caggiula**, A.R., Epstein, L.H., Perkins, K.A. ve Saylor, S. (1995). Different methods of assessing nicotine-induced antinociception may engage different neural mechanisms. *Psychopharmacology*, **122**, 301-306.
- Caldwell**, J.D., Mason, G.A., Stanley, D.A., Jerdack, G., Hruby, V.J., Hill, P. ve ark. (1987). Effects of nonapeptide antagonists on oxytocin- and arginine-vasopressin-induced analgesia in mice. *Regulatory Peptides*, **18**, 233-241.
- Carson**, D.S., Hunt, G.E., Guastella, A.J., Barber, L., Cornish, J.L., Arnoid, J.C. ve ark. (2010). Sistemically administered oxytocin decreases methamphetamine activation of the subthalamic nucleus and accumbens core and stimulates oxytocinergic neurons in the hypothalamus. *Addiction Biology*, **15**, 448-463.
- Chavooshi**, B., Saberi, M., Pournaghash Tehrani, S., Bakhtiarian, A., Ahmadiani, A. ve Haghparast, A. (2009). Vigabatrin attenuates the development and expression of

- tolerance to morphine-induced antinociception in mice. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, **93**, 155-159.
- Clark**, S.M., Murhy, M.T., Lipton, J.M. ve Clark, W.G. (1983). Effects of morphine on body temperature of squirrel monkeys of various ages. *Brain Research Bulletin*, **10**, 305-308.
- Condés-Lara**, M., Rojas-Piloni, G., Martínez-Lorenzana, G., Rodríguez-Jiménez, J., López Hidalgo, M. ve Freund-Mercier, M.J. (2006). Paraventricular hypothalamic influences on spinal nociceptive processing. *Brain Research*, **1081**, 126-127.
- Cox**, B., Ary, M., Chesarek, W. ve Lomax, P. (1976). Morphine hyperthermia in the rat: an action on the central thermostat. *European Journal of Pharmacology*, **36**, 33-39.
- DePriest**, A.Z., Puet, B.L., Holt, A.C., Roberts, A. ve Cone, E.J. (2005). Metabolism and disposition of prescription opioids: A review. *Forensic Science Review*, **27**, 115-145.
- Díaz-Cabiale**, Z., Petersson, M., Narváez, J.A., Uvnäs-Moberg, K. ve Fuxe, K. (2000). Systemic oxytocin treatment modulates alpha-2 adrenoceptors in the telencephalic and diencephalic regions of the brain. *Brain Research*, **887**, 421-425.
- Donhoffner**, M.E., Goings, S.B., Atabaki, K. ve Wood, R.I. (2016). Intraventricular oxytocin self-administration in female rats. *Journal of Neuroendocrinology*, **28**(10).
- El Bitar**, N., Pollin, B., Karroum, E., Pinedé, I. ve Le Bars, D. (2016). Entanglement between thermoregulation and nociception in the rat: the case of morphine. *Journal of Neurophysiology*, **116**, 2473-2496.
- Ermisch**, A., Barth, T., Rühle, H.J., Skopková, J., Hrbas, P. ve Landgraf, R. (1985). On the blood-brain barrier to peptides: accumulation of labelled vasopressin, DesGlyNH₂-vasopressin and oxytocin by brain regions. *Endocrinologia Experimentalis*, **19**, 29-37.
- Ernsberger**, P., Giuliano, R., Willette, R.N. ve Reis, D.J. (1990). Role of imidazoline receptors in the vasodepressor response to clonidine analogs in the rostral ventrolateral medulla. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, **253**, 408-418.
- Fdez Espejo**, E., Cador, M. ve Stinus, L. (1995). Ethopharmacological analysis of naloxone-precipitated morphine withdrawal syndrome in rats: a newly-developed “etho score”. *Psychopharmacology*, **122**, 122-130.

- Fink, K.** ve Göthert, M. (1993). Modulation of N-methyl-D-aspartate (NMDA)-stimulated noradrenaline release in rat brain cortex by presynaptic alpha 2-adrenoceptors. *Naunyn Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, **348**, 372-378.
- Fiorillo, C.D.** ve Williams, J.T. (1996). Opioid desensitization: interactions with G-protein-coupled receptors in the locus coeruleus. *The Journal of Neuroscience*, **16**, 1479-1485.
- Fredholm, B.B.,** Johannson, S. ve Wang, Y.Q. (2011). Adenosine and the regulation of metabolism and body temperature. *Advances in Pharmacology*, **61**, 77-94.
- Fukushima, N.** (1975). Role of brain biogenic amines in the central thermoregulatory mechanism of the rat. *Hokkaido Igaku Zasshi*, **50**, 369-385.
- Galeotti, N.,** Ghelardini C., Vinci, M.C. ve Bartolini, A. (1999). Role of potassium channels in the antinociception induced by agonists of alpha2-adrenoceptors. *British Journal of Pharmacology*, **126**, 1214-1220.
- Gard, P.R.,** Daw, P., Mashhour, Z.S. ve Tran, P. (2007). Interactions of angiotensin IV and oxytocin on behaviour in mice. *Journal of the Renin-Angiotensin-Aldosterone System*, **8**, 133-138.
- Gardmark, M.,** Hóglund, A.U. ve Hammarlund-Udenaes, M. (1998). Aspects on tail-flick, hot plate and electrical stimulation tests for morphine antinociception. *Pharmacology & Toxicology*, **83**, 252-258.
- Garzón, J.,** Rodríguez-Munoz, M. ve Sánchez-Blázquez, P. (2012). Direct association of mu-opioid and NMDA glutamate receptors supports their cross-regulation: molecular implications for opioid tolerance. *Current Drug Abuse Reviews*, **5**, 199-226.
- Geller, E.B.,** Rowan, C.H. ve Adler, M.W. (1986). Body temperature effects of opioids in rats: intracerebroventricular administration. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, **24**, 1761-1765.
- Gibbs, D.M.** (1986). Stress-specific modulation of ACTH secretion by oxytocin. *Neuroendocrinology*, **42**, 456-458.
- 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 Sciences*, **59**, 426-427.

- Gimpl, G.** ve **Fahrenholz, F.** (2001). The oxytocin receptor system: structure, function and regulation. *Physiological Reviews*, **81**, 629-683.
- González-Hernández, A.**, **Rojas-Piloni, G.** ve **Condés-Lara, M.** (2014). Oxytocin and analgesia: future trends. *Trends in Pharmacological Sciences*, **35**, 549-551.
- Grippe, A.J.**, **Trahanas, D.M.**, **Zimmerman, R.R.**2nd., **Porges, S.W.** ve **Carter, C.S.** (2009). Oxytocin protects against negative behavioral and autonomic consequences of long-term social isolation. *Psychoneuroendocrinology*, **34**, 1542-1553.
- Gunn, A.**, **Bobbeck, E.N.**, **Weber, C.** ve **Morgan, M.M.** (2011). The influence of non-nociceptive factors on hot-plate latency in rats. *The Journal of Pain*, **12**, 222-227.
- Guo, T.Z.**, **Jiang, J.Y.**, **Buttermann, A.E.** ve **Maze, M.** (1996). Dexmedetomidine injection into the locus coruleus produces antinociception. *Anesthesiology*, **84**, 873-881.
- Gursoy, S.**, **Ozdemir, E.**, **Bagcivan, I.**, **Altun, A.** ve **Durmus, N.** (2011). Effects of alpha 2-adrenoceptor agonists dexmedetomidine and guanfacine on morphine analgesia and tolerance in rats. *Upsala Journal of Medical Sciences*, **116**, 238-246.
- Hepburn, M.J.**, **Little, P.J.**, **Gingras, J.** ve **Kuhn, J.M.** (1997). Differential effects of naltrindole on morphine-induced tolerance and physical dependence in rats. *The Journal of Pharmacology abd Experimental Therapeutics*, **281**, 1350-1356.
- Herisson, F.M.**, **Waas, J.R.**, **Fredriksson, R.**, **Schiöth, H.B.**, **Levine, A.S.** ve **Olszewski, P.K.** (2016). Oxytocin acting in the nucleus accumbens core decreases food intake. *Journal of Neuroendocrinology*, **28**, 12381.
- Hicks, C.**, **Ramos, L.**, **Reekie, T.**, **Misagh, G.H.**, **Narlawar, R.**, **Kassiou, M.** ve ark. (2014). Body temperature and cardiac changes induced by peripherally administered oxytocin, vasopressin and the non-peptide oxytocin receptor agonist WAY 264,464: a biotelemetry study in rats. *British Journal of Pharmacology*, **171**, 2868-2887.
- Höcker, J.**, **Gruenewald, M.**, **Meybohm, P.**, **Schaper, C.**, **Scholz, J.**, **Steinfath, M.** ve ark. (2010). Nefopam but not physostigmine affects the thermoregulatory response in mice via alpha(2)-adrenoceptors. *Neuropharmacology*, **58**, 495-500.
- Huffman, R.D.**, **Simmons, K.E.** ve **Lum, J.T.** (1985). An intraventricular infusion model for inducing morphine dependence in rats: quantitative assessment of precipitated withdrawal. *Behavioral Neuroscience*, **99**, 861-880.

- Idanpaan-Heikkila, J.J., Kalso, E.A. ve Seppala, T. (1994).** Antinociceptive actions of dexmedetomidine and the kappa-opioid receptor agonist U-50,488H noxious thermal, mechanical and inflammatory stimuli. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, **271**, 1306-1313.
- Kang, Y.S. ve Park, J.H. (2000).** Brain uptake and the analgesic effect of oxytocin: its usefulness as an analgesic agent. *Archives of Pharmacal Research*, **23**, 391-395.
- Kang, M., Mischel, R.A., Bhawe, 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.
- Karpova, I.V., Mikheev, V.V., Marysheva, V.V., Bychkov, E.R. ve Proshin, S.N. (2016).** Oxytocin-induced changes in monoamine level in symmetric brain structures of isolated aggressive C57Bl/6 mice. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, **160**, 605-609.
- 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.
- Kennett, J.E. ve McKee, D.T. (2012).** Oxytocin: an emerging regulator of prolactin secretion in the female rat. *Journal of Neuroendocrinology*, **24**, 403-412.
- Kim, J., Ham, S., Hong, H., Moon, C. ve Im, H.I. (2016).** Brain reward circuits in morphine addiction. *Molecules and Cells*, **39**, 645-653.
- 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.
- Klenerova, V., Krejci, I., Sida, P., Hlinak, Z. ve Hynie, S. (2009).** Modulatory effects of oxytocin and carbetocin on stress-induced changes in rat behavior in the open-field. *Journal of Physiology and Pharmacology*, **60**, 57-62.
- Kovacks, G.L. ve De Wied, D. (1994).** Peptiderjik modulation of learning and memory processes. *Pharmacological Reviews*, **46**, 269-291.
- Kovacks, G.L., Sarnyai, Z. ve Szabo, G. (1998).** Oxytocin and addiction: A review. *Psychoneuroendocrinology*, **23**, 945-962.

- 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.
- Kuraishi, Y.**, Hirota, N., Sato, Y., Kaneko, S., Satoh, M. ve Takagi, H. (1985). Noradrenergic inhibition of the release of substance P from the primary afferents in the rabbit spinal dorsal horn. *Brain Research*, **359**, 177-182.
- Langerman, L.**, Zakowski, M.I., Piskoun, B. ve Grant, G.J. (1995). Hot plate versus tail flick: evaluation of acute tolerance to continuous morphine infusion in the rat model. *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods*, **34**, 23-27.
- Lee, M.R.**, Scheidweiler, K.B., Diao, X.X., Akhlaghi, F., Cummins, A., Huestis, M.A. ve ark. (2018). Oxytocin by intranasal and intravenous routes reaches the cerebrospinal fluid in rhesus macaques: determination using a novel oxytocin assay. *Molecular Psychiatry*, **23**, 115-122.
- Li, X.** ve Eisenach, J.C. (2001). α 2A-adrenoceptor stimulation reduces capsaicin-induced glutamate release from spinal cord synaptosomes. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, **299**, 939-944.
- Lilius, T.O.**, Rauhala, P.V., Kambur, O. ve Kalso, E.A. (2009). Modulation of morphine-induced antinociception in acute and chronic opioid treatment by ibudilast. *Anesthesiology*, **111**, 1356-1364.
- Lima, J.P.** ve Rodrigues, A.L. (2018). Oxytocinergic system: A proposal. *Acta Psychopathologica*, **4**, 3:14.
- Mann, A.**, Illing, S., Miess, E. ve Schulz, S. (2015). Different mechanisms of homologous and heterologous μ -opioid receptor phosphorylation. *British Journal of Pharmacology*, **172**, 311-316.
- McGregor, I.S.** ve Bowen, M.T. (2012). Breaking the loop: oxytocin as a potential treatment for drug addiction. *Hormones and Behavior*, **61**, 331-339.
- Mierzejewski, P.**, Koroś, E., Goldberg, S.R., Kostowski, W. ve Stefański, R. (2003). Intravenous self administration of morphine and cocaine: a comparative study. *Polish Journal of Pharmacology*, **55**, 713-726.

- Mignat**, C., Wille, U. ve Ziegler, A. (1995). Affinity profiles of morphine, codeine, dihydrocodeine and their glucuronides at opioid receptor subtypes. *Life Science*, **56**, 793-799.
- Milne**, B., Sutak, M., Cahill, C.M. ve Jhamandas, K. (2011). Low dose alpha-2 antagonist paradoxically enhances rat norepinephrine and clonidine analgesia. *Anesthesia and Analgesia*, **112**, 1500-1503.
- Morgan**, M.M., Sohn, J.H. ve Liebeskind, J.C. (1989). Stimulation of the periaqueductal gray matter inhibits nociception at the supraspinal as well as spinal level. *Brain Research*, **502**, 61-66.
- Morgan**, M.M., Reid, R.A. ve Saville, K.A. (2014). Functionally selective signaling for morphine and fentanyl antinociception and tolerance mediated by the rat periaqueductal gray. *PLoS One*, **9**, e114269.
- Morton**, G.J., Thatcher, B.S., Reidelberger, R.D., Ogimoto, K., Wolden-Hanson, T., Baskin, D.G. ve ark. (2012). Peripheral oxytocin suppresses food intake and causes weight loss in diet-induced obese rats. *American Journal of Physiology, Endocrinology and Metabolism*, **302**, E134-E144.
- Mucha**, R.E., Kalant, H. ve Kim, C. (1987). Tolerance to hyperthermia produced by morphine in rat. *Psychopharmacology*, **92**, 452-458.
- Nestler**, E.J., Alreja, M. ve Aghajanian, G.K. (1994). Molecular and cellular mechanisms of opiate action; studies in the rat locus coeruleus. *Brain Research Bulletin*, **35**, 521-528.
- Neumann**, I.D., Maloumby, R., Beiderbeck, D.I., Lukas, M. ve Landgraf, R. (2013). Increased brain and plasma oxytocin after intranasal and peripheral administration in rats and mice. *Psychoneuroendocrinology*, **38**, 1985-1993.
- Nishikawa**, T., Tanaka, M., Tsuda, A., Kohno, Y. ve Nagasaki, N. (1983). Differential effects of clonidine on α_1 and α_2 -adrenoceptors in foot-shock induced-jumping behavior. *European Journal of Pharmacology*, **88**, 399-401.
- Nguyen**, V., Tiemann, D., Park, E. ve Salehi, A. (2017). Alpha-2 agonists. *Anesthesiology Clinics*, **35**, 233-245.

- O'Donnell, J.M., Banyasz, T. ve Kovacs, T. (1996).** Altered thermoregulatory responses to clonidine in streptozotocin-diabetic rats. *British Journal of Pharmacology*, **117**, 938-942.
- Osborne, R., Joel, S., Trew, D. ve Slevin, M. (1990).** Morphine and metabolite behavior after different routes of morphine administration: demonstration of the importance of the active metabolite morphine-6-glucoronide. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, **47**, 12-19.
- Ozdogan, U.K., Lähdesmäki, J., Hakala, K. ve Scheinin, M. (2004).** The involvement of α_2 A-adrenoceptors in morphine analgesia, tolerance and withdrawal in mice. *European Journal of Pharmacology*, **497**, 161-171.
- Panula, P., Karlstedt, K., Sallmen, T., Peitsaro, N., Kaslin, J., Michelsen, K.A. ve ark. (2000).** The histaminergic system in the brain: structural characteristics and changes in hibernation. *Journal of Chemical Anatomy*, **18**, 65-74.
- Patrick, G.A., Dewey, W.L., Spaulding, T.C. ve Harris, L.S. (1975).** Relationship of brain morphine levels to analgesic activity in acutely treated mice and rats and in pellet implanted mice. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, **193**, 876-883.
- Petersson, M., Alster, P., Lundeberg, T. ve Uvnäs-Moberg, K. (1996).** Oxytocin increases nociceptive thresholds in a long-term perspective in male and female rats. *Neuroscience Letters*, **212**, 87-90.
- Petersson, M., Uvnäs-Moberg, K., Erhardt, S. ve Engberg, G. (1998).** Oxytocin increases locus coeruleus alpha 2-adrenoceptor responsiveness in rats. *Neuroscience Letters*, **255**, 115-118.
- Petersson, M., Lundeberg, T. ve Uvnäs-Moberg, K. (1999).** Oxytocin enhances the effects of clonidine on blood pressure and locomotor activity. *Journal of the Autonomic Nervous System*, **78**, 49-56.
- Petersson, M., Diaz-Cabiale, Z., Angel Narváez, J., Fuxe, K. ve Uvnäs-Moberg, K. (2005a).** Oxytocin increases the density of high affinity alpha(2)-adrenoceptors within the hypothalamus, the amygdala and the nucleus of the solitary tract in ovariectomized rats. *Brain Research*, **1049**, 234-239.

- Petersson**, M., Eklund, M. ve Uvnäs-Moberg, K. (2005b). Oxytocin decreases corticosterone and nociception and increases motor activity in OVX rats. *Maturitas*, **51**, 426-433.
- Pichot**, C., Longrois, D., Ghignone, M. ve Quintin, L. (2012). Dexmedetomidine and clonidine: a review of their pharmacodynamics to define their role for sedation in intensive care patients. *Annales Francaises d'Anesthesie et de Reanimation*, **31**, 876-896.
- Piersey**, M.F. ve Schroeder, L.A. (1981). Spinal and supraspinal sites for morphine and nefopam analgesia in the mouse. *European Journal of Pharmacology*, **74**, 135-140.
- Pintér-Kübler**, B., Ferenczi, S., Núñez, C., Zelei, E., Polyák, A., Milanés, M.V. ve ark. (2013). Differential changes in expression of stress- and metabolic-related neuropeptides in the rat hypothalamus during morphine dependence and withdrawal. *PLoS One*, **8**, e67027.
- Rawls**, S.M. ve Benamar, K. (2011). Opioid, cannabinoid, and transient receptor potential (TRP) systems: effects on body temperature. *Frontiers in Bioscience (Scholar Edition)*, **3**, 822-845.
- Ring**, R.H., Malberg, J.H., Potestio, L., Ping, J., Boikess, S., Luo, B. ve ark. (2006). Anxiolytic-like activity of oxytocin in male mice: behavioral and anatomic evidence, therapeutic implications. *Psychopharmacology*, **185**, 218-225.
- Rosow**, C.E., Miller, J.M., Poulsen-Burke, J. ve Cochin, J. (1982). Opiates and thermoregulation in mice: IV. Tolerance and cross tolerance. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, **223**, 702-708.
- Ross**, H.E. ve Young, L.J. (2009). Oxytocin and the neural mechanisms regulating social cognition and affiliative behavior. *Frontiers in Neuroendocrinology*, **30**, 534-547.
- Sagen**, J. ve Proudfit, H.K. (1984). Effect of intrathecally administered noradrenergic antagonists on nociception in the rat. *Brain Research*, **310**, 295-301.
- Sagen**, J. ve Proudfit, H.K. (1985). Evidence for pain modulation by pre- and postsynaptic noradrenergic receptors in the medulla oblongata. *Brain Research*, **331**, 285-293.
- Sharif**, S.I. ve El-Kadi, A.O. (1996). Modification of naloxone-precipitated withdrawal symptoms in mice by drugs acting on alpha(2)-adrenoceptors. *Behavioural Pharmacology*, **7**, 334-340.

- Shirokawa**, T., Ishida, Y. ve Isobe, K. (2003). Age-related changes in the release and uptake activity of presynaptic axon terminals of rat locus coeruleus neurons. *Neuroscience Letters*, **344**, 212-214.
- Shokraviyan**, M., Miladi-Gorji, H. ve Vaezi, G.H. (2014). Voluntary and forced exercises prevent the development of tolerance to analgesic effects of morphine in rats. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, **17**, 271-277.
- Siggins**, G.R., Martin, G., Roberto, M., Nie Z., Madamba, S. ve De Lecea, L. (2003). Glutamatergic transmission in opiate and alcohol dependence. *Annals of the New York Academy of Sciences*, **1003**, 196-211.
- Sinclair**, M.S., Perea-Martinez, I., Abouyared, M., St John, S.J. ve Chaudhari, N. (2015). Oxytocin decreases sweet taste sensitivity in mice. *Physiology & Behavior*, **141**, 103-110.
- 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, P.H. (2006). PKC and PKA inhibitors reinstate morphine-induced behaviors in morphine tolerant mice. *Pharmacological Research*, **54**, 474-480.
- South**, S.M. ve Smith, M.T. (1998). Apparent insensitivity of the hot plate latency test for detection of antinociception following intraperitoneal, intravenous or intracerebroventricular M6G administration to rats. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, **286**, 1326-1332.
- Spaulding**, T.C., Fielding, S., Venafro, J.J. ve Lal, H. (1975). Antinociceptive activity of clonidine and its potentiation of morphine analgesia. *European Journal of Pharmacology*, **58**, 19-25.
- Striepens**, N., Kendrick, K.M., Hanking, V., Landgraf, R., Wülner, U., Maier, W. ve ark. (2013). Elevated cerebrospinal fluid and blood concentrations of oxytocin following its intranasal administration in humans. *Scientific Reports*, **3**, 3440.
- Sudo**, R.T., do Amaral, R.V., Monteiro C.E.D.S., Pitta, I.D.R., Lima M.D.C., Montes, GC. ve ark. (2017). Antinociception induced by a novel α_{2A} adrenergic receptor agonist in

- rodents acute and chronic pain models. *European Journal of Pharmacology*, **815**, 210-218.
- Szabó, G.**, Kovács, G.L., Székeli, S. ve Telegdy, G. (1985). The effects of neurohypophyseal hormones on tolerance to the hypothermic effect of ethanol. *Alcohol*, **2**, 567-574.
- Taylor, J.R.**, Elsworth, J.D., Garcia, E.J., Grant, S.J., Roth, R.H. ve Redmond, D.E.Jr. (1988). Clonidine infusions into the locus coeruleus attenuate behavioral and neurochemical changes associated with naloxone-precipitated withdrawal. *Psychopharmacology*, **96**, 121-134.
- Tejwani, G.A.**, Rattan, A.K., Sribanditmongkol, P., Sheu, M.J., Zuniga, J. ve McDonald, J.S. (1993). Inhibition of morphine-induced tolerance and dependence by a benzodiazepine receptor agonist midazolam in the rat. *Anesthesia and Analgesia*, **76**, 1052-1060.
- Tomasini, C.**, Guidorzi, R., Bianchi ve C., Beani, L. (1992). Clonidine inhibition of norepinephrine release from normal and morphine-tolerant guinea pig cortical slices. *Journal of Neurochemistry*, **58**, 1440-1446.
- Tseng, L.F.**, Loh, H.H. ve Wei, E.T. (1975). Effects of clonidine on morphine withdrawal signs in the rat. *European Journal of Pharmacology*, **30**, 93-99.
- Ueda, H.** ve Ueda, M. (2009). Mechanisms underlying morphine analgesic tolerance and dependence. *Frontiers in Bioscience (Landmark Edition)*, **14**, 5260-5272.
- Uvnäs-Moberg, K.** (1997). Oxytocin linked antistress effects: the relaxation and growth response. *Acta Physiologica Scandinavica Supplementum*, **640**, 38-42.
- van der Burg, E.H.**, Stindl, J., Grundt, T., Neumann, I.D. ve Strauss, U. (2015). Oxytocin stimulates extracellular Ca^{2+} influx through TRPV2 channels in hypothalamic neurons to exert its anxiolytic effects. *Neuropsychopharmacology*, **40**, 2938-2947.
- van der Heyden, J.A.**, Zethof, T.J. ve Olivier, B. (1997). Stress-induced hyperthermia in singly housed mice. *Physiology & Behavior*, **62**, 463-470.
- Vane, J.R.** ve Williams, K.I. (1974). A sensitive method for the assay of oxytocin in the circulating blood. *British Journal of Pharmacology*, **52**, 295-305.

- Vicente-Rodríguez, M., Pérez-García, C., Gramage, E. ve Herradón, G.** (2013). Genetic inactivation of pleiotrophin but not midkine potentiates clonidine-induced alpha-2 adrenergic-mediated analgesia. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, **110**, 185-191.
- Viero, C., Shibuya, I., Kitamura, N., Verkhatsky, A., Fujihara, H., Katoh, A. ve ark.** (2010). Oxytocin: Crossing the bridge between basic science and pharmacotherapy. *CNS Neuroscience & Therapeutics*, **16**, e138-e156.
- Xu, X.J. ve Wiesenfeld-Hallin, Z.** (1994). Is systemically administered oxytocin an analgesic in rats. *Pain*, **57**, 193-196.
- Yaksh, T.L.** (1985). Pharmacology of spinal adrenergic systems which modulate spinal nociceptive processing. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, **22**, 845-58.
- Yang, J.** (1994). Intrathecal administration of oxytocin induces analgesia in low back pain involving the endogenous opiate peptide system. *Spine*, **19**, 867-871.
- Yeğen, B.Ç., Alica, İ. ve Solakoğlu, Z.** (2017). *Guyton ve Hall Tıbbi Fizyoloji*. (13. Ed). Ankara: Güneş Tıp Kitapevleri.
- Yoburn, B.C., Chen, J., Huang, T. ve Inturrisi, C.E.** (1985). Pharmacokinetics and pharmacodynamics of subcutaneous morphine pellets in rats. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, **235**, 282-286.
- You, Z.D., Li, J.H., Song, C.Y., Wang, C.H. ve Lu, C.L.** (2000). Chronic morphine treatment inhibits oxytocin synthesis in rats. *Neuroreport*, **11**, 3113-3116.
- Yuill, M.B., Zee, M.L., Marcus, D. ve Morgan, D.J.** (2016). Tolerance to the antinociceptive and hypothermic effects of morphine is mediated by multiple isoforms of c-Jun N-terminal kinase. *Neuroreport*, **27**, 392-396.
- Zanos, P., Georgiou, P., Wright, S.R., Hourani, S.M., Kitchen, I., Winsky-Sommerer, S. ve ark.** (2014). The oxytocin analogue carbetocin prevents emotional impairment and stress-induced reinstatement of opioid-seeking in morphine-abstinent mice. *Neuropsychopharmacology*, **39**, 855-865.
- Zhou, Q., Bao, Y., Zhang, X., Zeng, L., Wang, L., Wang, J. ve ark.** (2014). Optimal interval for hot water immersion tail-flick test in rats. *Acta Neuropsychiatrica*, **26**, 218-222.

ETİK KURUL KARARI



T.C
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU



Sayı: 2016/ 19

25/02/2016

Sayın Prof. Dr. Nurhan ENGİNAR
İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi

Karar No 2016/ 19

Başvuru : 25.12.2015

Sorumluluğunu üstlendiğiniz, aşağıda çalışma materyali belirtilen, **Yüksek Lisans Öğrencisi Safiye ÖZDEMİR ÇEZİK**'e ait "Oksitosinin alfa-2 adrenoseptör duyarlılığını ve ağrı eşikini artırmamasın sıçanlarda morfine bağımlılık ve tolerans gelişmesine etkilerinin araştırılması" isimli projeniz Kurulumuz tarafından incelenmiş ve Etik Kurul ilkelerine uygun bulunmuştur.

Çalışılacak Hayvanın	Türü	Sıçan
	Cinsiyeti	Erkek
	Sayısı	84
Proje Başlangıç/Bitiş Tarihi		Mayıs-Haziran 2016/Eylül-Ekim 2016

Prof. Dr. Alev AKDOĞAN KAYMAZ
İÜ HADYEK Başkanı

Prof. Dr. Mehmet YALTIRIK
Üye

Prof. Dr. Ufuk ÇAKATAY
Üye

Prof. Dr. İlhan İLKILIÇ
Üye

Doç. Dr. Alper OKYAR
Üye

Yard. Doç. Dr. Altan ARMUTAK
Üye

Uzm. Vet. Hek. Fatma TEKELİ
Üye

Dr. Burak OLGUN
Mak. Yük. Müh.
Üye

Avukat Selma DEMİR
Üye

İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI

OKSİTOSİNİN ALFA-2 ADRENOSEPTÖR DUYARLILIĞINI VE
AĞRI EŞİĞİNİ ARTIRMASININ SIÇANLARDA MORFİNE
BAĞIMLILIK VE TOLERANS GELİŞMESİNE ETKİLERİNİN
ARAŞTIRILMASI

ORJİNALLIK RAPORU

%4

BENZERLİK ENDEKSİ

%2

İNTERNET
KAYNAKLARI

%2

YAYINLAR

%1

ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1	pharmacy.erciyes.edu.tr İnternet Kaynağı	%1
2	Submitted to Istanbul University Öğrenci Ödevi	%1
3	Submitted to TechKnowledge Turkey Öğrenci Ödevi	<%1
4	www.psikguncel.org İnternet Kaynağı	<%1
5	 "Erken Gelişim Döneminde MK-801 Uygulanan Siçanlarda, Standart ve Zengin Çevrede Oluşturulan Sosyal İzolasyonun Yetişkinin Duygusal Davranışları Üzerine Etkileri" Nöro Psikiyatri Arşivi, 2012 Yayın	<%1
6	Submitted to Trakya University Öğrenci Ödevi	<%1

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	Safiye	Soyadı	Özdemir Çezik
Doğ.Yeri	Siirt	Doğ.Tar.	23.10.1986
Uyruğu	TC	TC Kim No	30223783626
Email	safiye_ozdemirr@hotmail.com	Tel	5469728463

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mez. Yılı
Doktora		
Yük.Lis.		
Lisans	Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi	2008
Lise	Siirt Lisesi (Y.D.A)	2004

İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

	Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
1.	Eczacı	Yeşil Eczanesi	2008-
2.			-

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*	KPDS/ÜDS Puanı	(Diğer) Puanı
İngilizce	İyi	Orta	Orta		52

*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
LES Puanı	75,08	56,41	71,01
(Diğer) Puanı			

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi
Microsoft word, powerpoint, excel	iyi

Özel İlgi Alanları (Hobileri): Kitap okumak, müzik dinlemek, doğada yürüyüş yapmak