T.C.
MARMARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

GLUTAMAT SALINIM İNHİBİTÖRÜ RİLUZOL'UN FARELERDE MORFİNE TOLERANS VE BAĞIMLILIK GELİŞMESİNE ETKİSİ

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ

Ecz. HALE ZERRİN ALTUNBAŞ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

102787

FARMAKOLOJİ
ANABİLİM DALI

DANIŞMAN
Yard. Doç. Dr. LEVENT KABASAKAL

İSTANBUL – 2001

I. TEŞEKKÜR

Tezimin hazırlanması ve çalışmalarımdaki katkılarından dolayı tez hocam ***Yard. Doç. Dr.Levent Kabasakal'a,*** *yüksek lisans eğitimim boyunca ve tezim sırasında her konuda büyük ilgi ve desteğini gördüğüm değerli hocam Anabilim Dalı Başkanımız* ***Prof. Dr. Gül Ayanoğlu-Dülger'e*** *ve tez çalışmalarımda değerli tecrübelerinden yararlandığım* ***Prof Dr. Meral Keyer-Uysal'a,*** *birçok konuda fikirleriyle bana ışık tutan* ***Doç. Dr. Feyza Arıcıoğlu-Kartal'a,*** *tezimin çeşitli aşamalarında yardımını gördüğüm* ***Yard. Doç. Dr. Sena Sezen'e,*** *tez çalışmalarım sırasında bana her türlü manevi desteği veren anabilim dalı elemanlarına,* ***Yard. Doç. Dr. Göksel Şener, Yard. Doç. Dr. Handan Şatıroğlu,*** *çalışma arkadaşlarım* ***Arş. Gör. Özer Şehirli, Eylem Körceğez*** *ve* ***Kübra Paskaloğlu'na,*** *tezimin her aşamasında büyük emeği ve katkısı olan, bana en büyük desteği veren* ***Alper'e,*** *yazılışı ve düzenlenmesi sırasında çok yardımı olan* ***Çağrı Akalın'a,*** *benimle gece enjeksiyonlarına gelen* ***aileme*** *ve* ***arkadaşlarıma,*** *bana büyük destek veren* ***Ercan'a*** *sonsuz teşekkürler...*

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ

II. İÇİNDEKİLER

I). TEŞEKKÜR

II). İÇİNDEKİLER

III). KISALTMALAR

1. ÖZET

2. SUMMARY

3. GİRİŞ VE AMAÇ

4. GENEL BİLGİLER

4.1. OPİOİDERJİK SİSTEM

4.1.1. OPİOİD RESEPTÖRLERİ

4.1.2. OPİOİD PEPTİDLERİN FİZYOLOJİK FONKSİYONLARI

4.2. MORFİN

4.2.1. TARİHÇESİ

4.2.2. FARMAKOKİNETİK ÖZELLİKLERİ

4.2.3. FARMAKOLOJİK ETKİLERİ

4.2.3.1. ANALJEZİ

4.2.3.2. AĞRININ KOMPONENTLERİ

4.2.3.3. MORFİN ANALJEZİSİNİN ETKİ YERLERİ

4.2.3.4. SSS ÜZERİNDEKİ DİĞER ETKİLERİ

4.2.3.5. PERİFERİK ETKİLERİ

4.3. TOLERANS VE FİZİKSEL BAĞIMLILIK

4.3.1. TOLERANS

4.3.2. BAĞIMLILIK

4.3.3. FİZİKSEL BAĞIMLILIK VE TOLERANS ARASINDAKİ İLİŞKİ

4.3.4. FİZİKSEL BAĞIMLILIK VE TOLERANS GELİŞME MEKANİZMALARI

4.4. GLUTAMAT

4.4.1. BEYIN VE OMURİLİKTE GLUTAMATERJİK AKSONLARIN OLUŞTURDUĞU YOLAKLAR

4.4.2. GLUTAMAT VE AĞRI
4.4.3. GLUTAMAT VE TOLERANS/BAĞIMLILIK
4.5. RİLUZOL
4.5.1. FARMAKOKİNETİK ÖZELLİKLERİ
4.5.2. RİLUZOLÜN ETKİ MEKANİZMASI

5. GEREÇ VE YÖNTEM
5.1. DENEY HAYVANLARI
5.2. KİMYASAL MADDELER
5.3. İLAÇLARIN HAZIRLANIŞI
5.4. İLAÇLARIN UYGULANMASI
5.5. AKUT ANALJEZİ DEĞERLENDİRMESİ
5.5.1. HOTPLATE TESTİ
5.5.2. TAİL-İMMERSİYON TESTİ
5.6. MORFİNİN ANALJEZİK ETKİSİNE TOLERANS GELİŞİMİNDE RİLUZOL'ÜN ETKİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ
5.7. MORFİNLE OLUŞTURULAN FİZİKSEL BAĞIMLILIĞIN DEĞERLENDİRİLMESİ
5.7.1. MORFİNE BAĞIMLI HAYVANLARDA NALOKSON İLE OLUŞTURULAN YOKSUNLUK SENDROMUNDA RİLUZOLÜN ETKİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ
5.7.2. MORFİNE BAĞIMLILIK GELİŞİMİNDE RİLUZOLÜN ETKİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ
5.8. İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME

6. BULGULAR
6.1. AKUT ANALJEZİDE RİLUZOLÜN ETKİSİ
6.2. MORFİNİN ANALJEZİK ETKİSİNE TOLERANS GELİŞİMİNDE RİLUZOL'ÜN ETKİSİ
6.3. MORFİNE BAĞIMLI HAYVANLARDA NALOKSON İLE OLUŞTURULAN YOKSUNLUK SENDROMUNDA RİLUZOLÜN ETKİSİ
6.4. MORFİNE BAĞIMLILIK GELİŞİMİNDE RİLUZOLÜN ETKİSİ

7. TARTIŞMA VE SONUÇ

8. EKLER

EK-1 ETİK KURUL RAPORU

EK-2 YOKSUNLUK SENDROMU DEĞERLENDİRME FORMU

EK-3 ANALJEZİ DEĞERLENDİRME FORMU

9. KAYNAKLAR

10. ÖZGEÇMİŞ

III. KISALTMALAR

ACh : asetilkolin
ACTH : adrenokortikotropik hormon
ADH : antidiüretik hormon
ADP : adenozin difosfat
ALS : Amyotrofik Lateral Skleroz
AMP : adenozin monofosfat
AMPA : alfa-amino-3-hidroksi-5-metil-4-izoksazol propiyonik asit
ANOVA : Analysis of varience, varyans analizi testi
APV : 2-amino-5-fosfovalerat
ATP : adenozin trifosfat
cAMP : 3′, 5′ - siklik adenozin monofosfat
CCK : kolesistokinin
cGMP : 3′, 5′ - siklik guanozin monofosfat
CTZ : chemoreceptor trigger zone
DAMGO : μ opioid reseptör agonisti, ([D-Ala^2, NMePhe^4, Gly-ol] enkefalin)
DPDPE : δ opioid reseptör agonisti, ([D-Phe^2, D-Phe^5] enkefalin)
EAA : eksitatör aminoasitler
EPSP : eksitatör postsinaptik potansiyel
FDA : Food & Drug Administration (Amerikan İlaç ve Gıda Kurumu)
GABA : gama-amino bütirik asit
GABA-T : GABA transaminaz
GAD : glutamik asit dekarboksilaz
GH : büyüme hormonu
HP : hot-plate testi
5-HT : 5-hidroksi triptamin, serotonin
icv : intraserebroventriküler
ip : intraperitoneal
it : intratekal
iv : intravenöz
KVS : kardiyovasküler sistem
L-AP4 : 2-amino-4-fosfopropiyonik asit
LC : locus coeruleus
L-NAME : $N^{(G)}$ –nitro-L-arjinin metil esteri
L-NMMA : N-monometil-L-arjinin
LTP : long-term potentiation (uzun süreli potansiyalizasyon)
MAO : monoamin oksidaz
MK-801 : dizosilpin, [(+) 5-metil-10,11-dihidro-5H-dibenzo[a,d] sikloheptan- 5,10-imin]
n. : nükleus
NA : nucleus accumbens
NADPH : nikotinamid adenin dinükleotid
NMDA : N-metil-D-aspartat
NO : nitrik oksit
NOS : nitrik oksit sentaz
NTS : nucleus tractus solitarius
PAG : periakuaduktal gri madde
PKC : protein kinaz C
RVLM : rostroventrolateral medulla
s : saniye

S : doz
sc : subkutan
SN : substantia nigra
SP : P maddesi
SSS : santral sinir sistemi
STN : subthalamic nucleus
TI : tail-immersiyon
TMO : Toprak Mahsülleri Ofisi
TTX : tetrodotoksin
WDR : wide-dynamic range, multireseptif

1. ÖZET

Beyindeki temel eksitatör aminoasit olan glutamatın ağrı ve tolerans/ bağımlılık gelişiminde önemli rolü olduğu bilinmektedir. Daha önceki çalışmalarda, glutamat antagonistlerinin, sistemik olarak uygulanan morfinin oluşturduğu analjezik cevabı değiştirdiği, ayrıca bağımlılık ve tolerans gelişmesini önlediği gösterilmiştir.

Psikotropik, antikonvülsan, hipnotik, anestezik ve nöroprotektif etkileri olduğu gösterilen riluzol, Amyotropik Lateral Skleroz (ALS) gibi nörodejeneratif hastalıklarda da yararlı etkileri saptandığından Türkiye dahil pek çok ülkede tedavide kullanılmakta olan yeni bir ilaçtır. Riluzolün bu etkilerini glutamat salınımını ve striatal sinaptozomlarda GABA geri alınımını inhibe etmesinin yanısıra voltaj bağımlı sodyum kanallarını bloke ederek oluşturduğu ileri sürülmektedir. Bu mekanizmaların ağrının algılanmasında rol oynadığı bilindiğinden, çalışmamızın amacı;

a- Artan dozlarda ve akut olarak uygulanan riluzolün morfin analjezisi üzerine etkisini belirlemek,

b- Riluzolün kronik olarak uygulanan morfinin oluşturduğu analjezik etkiye karşı oluşan tolerans ve morfin bağımlılığı üzerine etkisini araştırmaktır.

Analjezik etki spinal olarak tail-immersiyon, supraspinal olarak da hot-plate testi ile değerlendirilmiştir.

Riluzol tek başına uygulandığında her iki testte de analjezik etkili bulunmamıştır. Ancak morfin ile birlikte uygulandığında, hot-plate testinde etkisizken, tail-immersiyon testinde morfinin analjezik etkisini inhibe etmiştir. Riluzolün 9 günlük kronik uygulaması, morfin analjezisine gelişen toleransını değiştirmemiştir. Riluzolün kullanılan en yüksek dozunda (6 mg/kg) nalokson ile oluşturulan yoksunluk sendromunun belirtileri şiddetlenmiştir. Morfine fiziksel bağımlılık gelişimini ise riluzol doza bağımlı olarak artırmıştır.

Bu sonuçlar riluzolün morfin analjezisi ve tolerans/bağımlılığı üzerinde modulatör bir rolü olabileceğini göstermektedir.

2. SUMMARY

Glutamate, the major excitatory amino acid in the brain, is known to play an important role in pain and morphine tolerance/dependence. It has previously been shown that glutamate antagonists alter the analgesic response to systemic morphine administration and inhibit the development of morphine tolerance and dependence.

Riluzole has been shown to have psycotrophic, anticonvulsant, hypnotic, anesthesic and neuroprotective effects. It is a new agent used in many countries, including Turkey, for its beneficial effects against neurodegenerative diseases such as Amyotrophic Lateral Sclerosis (ALS). It has been suggested that riluzol exhibits these effects via the inhibition of glutamate release and GABA uptake in the striatal synaptosomes and blockade of voltage-dependent sodium channels. Since these mechanisms have been suggested to play an important role in pain perception, in this study, we have investigated;

a- The acute effect of increasing doses of riluzole on the analgesic effect of morphine

b- The effect of riluzole on the development of tolerance and dependence due to chronic administration of morphine.

We used hot-plate test for the evaluation of supraspinal analgesia and tail-immersion test for the evaluation of spinal analgesia.

Riluzole alone did not have any analgesic effect on either tail-immersion or hot-plate tests. However, riluzole pretreatment inhibited the analgesic response to morphine in tail-immersion test but did not change the analgesic response in hot-plate-test. Chronic administration of riluzole for 9 days did not have any effect on the development of morphine tolerance. The highest dose of riluzole (6 mg/kg) enhanced the withdrawal signs of naloxone-precipitated morphine abstinence syndrome. Riluzole, dose-dependently increased the development of physical dependence to morphine.

These results indicate that riluzole has a modulatory role on the effects of morphine.

3. GİRİŞ VE AMAÇ

Ağrıyı dindirmeye çalışmak tıbbın doğuşu ile birlikte uygulanmaya başlanan ilk tedavidir. Ağrıyan yere masaj yapmaktan başlayıp, bitkisel ilaçlar ve basit analjezikler ile devam etmiş, günümüzde opioid analjeziklere kadar uzanmıştır. Bu süreç yeni analjeziklerin araştırılması ile hızlı bir şekilde gelişim göstermektedir (98).

Başta morfin olmak üzere opioidler analjezik olarak tekrarlanan dozlarda uzun süre kullanıldıklarında konstipasyon ve miyozis yapıcı etkileri hariç, diğer farmakolojik etkilerine karşı tolerans ve fiziksel bağımlılık gelişmektedir. Opioidlere tolerans ve bağımlılık gelişme riskinin bulunması, özellikle terminal kanser hastaları gibi uzun süreli opioid analjezik uygulanması gereken hastalarda opioidlerin kullanımına sınırlama getirmektedir. Bu yüzden morfin günümüzde sadece bazı postoperatif ağrılarda, renal kolik ve terminal kanser ağrılarında kullanılmaktadır (71).

Morfin ve benzerleri opioidlerin keyif verici etkileri nedeniyle suistimal edilmeleri ilaç bağımlı kişilerin artmasına yol açmaktadır. Bu maddelerin bağımlılar tarafından, özellikle iv olarak kullanılması tehlikeli boyutlarda enfeksiyonların bulaşma ve yayılma riskini artırmaktadır. Bu nedenle opioidlere tolerans ve bağımlılık gelişiminde rol oynayan mekanizmaları aydınlatmak son derece önem kazanmakdadır.

Opioidlerin kronik kullanılması sonucu gelişen tolerans ve bağımlılık, opioid reseptörü taşıyan nöronların ilaca devamlı maruz kalması sonucu gelişen adaptasyonu yansıtır ve bu adaptif kompansatuvar değişiklikler nöronlarda ve nöronal sistemlerde yeni bir denge durumu yaratır. Tolerans ve bağımlılık gelişimi konusunda birçok çalışma yapılmış olmakla birlikte oluşum mekanizmaları tam olarak aydınlatılamamıştır. Ancak kabul edilen görüşe göre tolerans ve bağımlılık, içiçe geçmiş olarak benzer bir mekanizmayla oluşmaktadır. Bu görüşü destekleyecek şekilde morfin toleransı ve fiziksel bağımlılığın birbirine paralel olarak geliştiği düşünülmektedir (2, 16, 18, 19, 53, 65, 67). Analjezik etkide ise bundan farklı bir mekanizmanın rolü olabileceği ileri sürülmektedir (21, 24, 47, 56, 70, 97). Bu da gelecekte olumsuzluklar bertaraf edilerek saf analjezik etki sağlanabileceği konusunda umut vermektedir.

Eksitatör amino asitler (EAA) olan glutamat ve aspartat'ın morfine tolerans ve bağımlılık gelişmesinde önemli rolü olduğu pek çok araştırmacı tarafından bildirilmiştir (28, 30, 33, 36, 42, 63, 73, 80). EAA reseptörleri olan N-metil-D-aspartat (NMDA) ve α-amino-3 hidroksi-5-metil-4-izoksazol propiyonik asit (AMPA) reseptörlerinin antagonistleri ile yapılan çalışmalarda morfinin analjezik etkilerine tolerans gelişiminin azaldığı gösterilmiştir (7, 9, 23, 59, 72, 86, 87, 94, 96). Ayrıca bu maddelerin morfine bağımlılık gelişimini ve bağımlılarda ortaya çıkan yoksunluk belirtilerinin bir kısmını önlediği saptanmıştır (32, 45, 52, 55).

Riluzolün presinaptik sinir ucundan glutamat ve aspartat salgılanmasını inhibe ederek eksitatör iletiyi önlediği bildirilmiştir (3). Riluzolün ayrıca glutamat salgılanmasını voltaj bağımlı sodyum kanallarını bloke (hiperpolarize) ederek baskıladığı gösterilmiştir (4). Bunların yanısıra antikonvülsan ve lokal anestezik etkilerinin olduğu saptanmıştır (22). Riluzol, glutamatın aşırı salgılanmasına bağlı olarak ortaya çıktığı düşünülen nöronal hasar ve özellikle motor nöronlarda meydana gelen hasarı önlemek amacıyla klinikte kullanılmaktadır (58).

Glutamaterjik sistem, ağrı iletisinin regülasyonunda, opioidlere tolerans/bağımlılık gelişiminde önemli rol oynamaktadır. Ancak presinaptik sinir ucundan glutamat salgılanmasını inhibe eden maddelerle ilgili bu konuda yeterli çalışma bulunmamaktadır. Bu amaçla çalışmamızda glutamat salgılanmasını inhibe eden riluzolün morfinin analjezik etkisine tolerans ve bağımlılık gelişimindeki etkileri incelenecektir.

4. GENEL BİLGİLER

4.1. OPİOİDERJİK SİSTEM

Opioid terimi tüm sentetik ya da doğal agonistler için, ***Opiat*** ise opiumdan türeyen morfin, kodein ve diğer yarı sentetik türevler için kullanılmaktadır (81).

1970'lerin sonunda santral sinir sisteminde (SSS) morfin ve benzeri ilaçların etkilediği opioiderjik reseptörlerin varlığının radyoligand bağlanma yöntemleriyle gösterilmesi, beyinde bazı alanların uyarılması ile analjezi oluşması, bunun opioid antagonistlerle önlenmesi SSS'de opioid benzeri endojen nöromediyatörlerin bulunduğuna ilişkin kanıt oluşturmuştur (15, 29, 69). Bunlara *opioid peptidler* adı verilmiştir (Bkz. Tablo 1). Rekombinant DNA tekniği kullanılarak yapılan çalışmalarda bu peptidlerin genetik olarak üç farklı prekürsör peptid molekülünden kaynaklandığı gösterilmiştir (31).

Tablo 1: Opioid peptidler

PREKÜRSÖR PEPTİD	*OPIOID PEPTİD*	*RESEPTÖR*
Proopiomelanokortin (POMK)	β-Endorfin α-Endorfin λ-Endorfin	μ
Proenkefalin A	Leu-enkefalin Met-enkefalin Heptapeptidler	δ δ, μ δ
Proenkefalin B (Prodinorfin)	Dinorfinler α-Neoendorfin β-Neoendorfin	κ

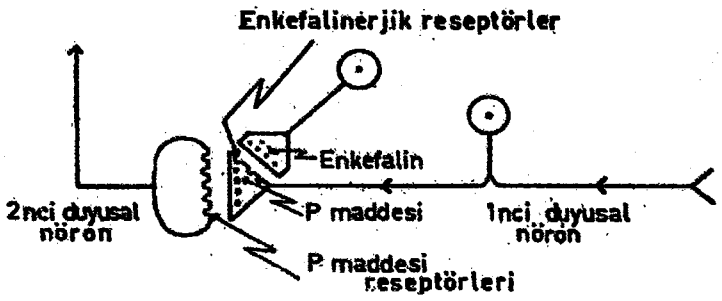
4.1.1. Opioid Peptidler

Proopiomelanokortin (POMK) Sistemi: Bu grupta β-endorfin adlı 31 amino asitli opioid peptid bulunur. Hipofiz ön lobundan POMK olarak isimlendirilen prekürsörden, önce ACTH ile birlikte β-lipoprotein oluşur, daha sonra β-lipoproteinden β-endorfin meydana gelir. Bu nöropeptidler yaygın olarak hipofiz ön lobunun dışında hipotalamusun arkuat nükleusunda, limbik sistemde amigdala'da, mezensefalonda periaquaduktal gri madde'de (PAG) bulunur. β-endorfin μ reseptörlere yüksek afinite gösterir ve etki gücü morfinden yaklaşık 50 kat daha fazladır (69). Peptidazlara dayanıklı olduğu için etkisi birkaç saat sürer.

Proenkefalin A Sistemi: Bu gruptaki başlıca opioid peptidler met-enkefalin, lö enkefalin ve heptapeptidlerdir. Bu peptidler; limbik sistemde, striatumda, substansia nigra ve omuriliğin arka boynuzu dahil SSS'de yaygın bir dağılım göstermektedir (69). Ayrıca adrenal medullada, pankreasta, sempatik gangliyonlarda ve gastrointestinal kanal çeperinde de bulunmaktadır. Enkefalinler beyinde nötral endopeptidazlar ve aminopeptidazlar tarafından inaktive edilmektedir (31).

Omurilik arka boynuzunda ara nöronlardan salınan enkefalinler aynı yerdeki primer duyusal sinir uçlarında parsiyel depolarizasyon ve böylece inhibisyon yaparlar (Bkz Şekil 1). Glutamatın etkisi enkefalinlerin postsinaptik membranı stabilize etmeleri dolayısıyla azalır, bu sinapslarda enkefalinlerin kendi başına membran konduktansına etkisi yoktur.

İntralaminer nukleustaki enkefalinerjik sinapslar ağrının afektif reaksiyon oluşturmasında modülatör rol oynarlar. Enkefalinler nöronlarda genel depresyon yaparlar; bunun istisnası Renshaw hücreleri ve hipokampustaki piramidal hücrelerdir.



Şekil 1: Enkefalinerjik nöron (50)

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ

Proenkafalin B (Prodinorfin): Bu grupta bulunan başlıca opioid peptidler; dinorfin 1-17, dinorfin 1-8, dinorfin 1-9, rimorfin neoendorfin ve β-neoendorfindir (29). Prodinorfin peptidleri beyinde yaygın bir dağılım gösterirler ve κ-opioid reseptörlerine yüksek afinite gösterirler. Bu peptidler, supraspinal düzeyde zayıf, spinal düzeyde ise güçlü analjezik etki oluştururlar (31).

4.1.2. Opioid Reseptörler

Radyoligand bağlanma yöntemleri ile 7 tip opioid reseptörü bulunmuştur. Bunlardan μ, δ, κ reseptör olarak, σ, ε, λ ve Z bağlanma noktaları olarak kabul edilmektedir. Son yıllarda μ, δ, κ reseptörleriyle homoloji gösteren yeni bir reseptör daha klonlanmış ve buna orphan (öksüz) opioid reseptörü ORL_1 adı verilmiştir (Bkz Tablo 2). ORL_1'in endojen ligandı orphanin-FQ (nosiseptin) ile ilgili çalışmalar da vardır.

Opioid reseptörler etkilerini 3 temel mekanizmayla oluştururlar:

1. Hücre içi siklik AMP (cAMP) azalması
2. Hücre içi Ca^{2+} azalması
3. K^+ kondüktansının artması

Tablo 2 : Opioid reseptörler ve fonksiyonları

RESEPTÖR TIPI	*AGONIST*	*ETKİ YERİ / FONKSİYON*
μ_1	β endorfin morfin diğer opiyatlar	Supraspinal analjezi, beyinde ACh turnoverinin yavaşlatılması, prolaktin salgılanması, katalepsi, beslenme, öğrenme, bellek, immun sistemin düzenlenmesi
μ_2	Morfin diğer opiyatlar	Solunum merkezinin inhibisyonu, gastrointestinal transitin yavaşlatılması, beyinde dopamin turnoverinin yavaşlatılması, kardiyovasküler sistemin santral kontrolü, kobay ileumunda kolinerjik aşırımın presinaptik inhibisyonu, beslenme
δ_1 , δ_2	Enkefalinler	Spinal analjezi, solunum merkezinin inhibisyonu, KVS fonksiyonlarının santral düzenlenmesi, beyinde dopamin turnoverinin yavaşlatılması, kognitif fonksiyonlar, immun sistemin düzenlenmesi, gastrointestinal motilite, fare vas deferensinde noradrenerjik aşırımın presinaptik inhibisyonu
κ_1 , κ_2 , κ_3	Dinorfinler Pentazosin Butorfanol Nalbufin	Spinal analjezi, sedasyon, disfori, ADH salgılanmasının inhibisyonu, beslenme, hipofiz hormonlarının salgısının düzenlenmesi
ORL_1	Nosiseptin	Analjezi, sedasyon, disfori, beslenme, ???

Opioid analjezikler ve morfin SSS'deki nöronlarda nöromediatör olarak bulunan endojen opioid peptidlerin etkisini taklit ederek farmakolojik etki oluşturur. İlk antagonist olan ***nalorfin*** 1950'de bulunmuştur, ancak nalorfin parsiyel agonisttir. Daha sonra bulunan ***nalokson*** ise tüm reseptörlerin antagonistidir.

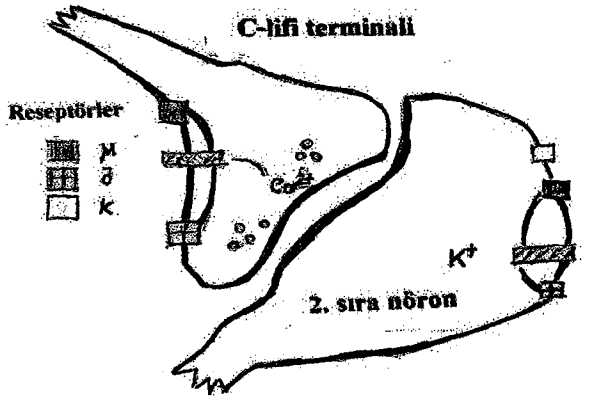
Opioidlerin oluşturduğu farmakolojik etkinin türü ve şiddeti etkiledikleri reseptörlerin tipine bağlı olarak değişmektedir (17, 69). μ reseptör aktivasyonunun analjezi, bağımlılık gelişimi, iştah artışı ve strese (69), δ reseptörlerin aktivasyonunun kardiyavasküler sistemde ve streste, κ reseptör aktivasyonunun ise su alımı, beslenme ve bazı davranışların düzenlenmesinde (11) önemli rol oynadığı düşünülmektedir.

Opioid reseptörlerinin beyin ve omurilikte bölgelere göre farklı bir dağılım gösterdiği saptanmıştır (17). Opioid reseptörlerin genel olarak striatumda yüksek, serebellumda az diğer beyin bölgelerinde ise orta yoğunlukta dağılım gösterdiği saptanmıştır. Bununla birlikte bu dağılımın hayvan türüne bağlı olarak beyin bölgelerindeki yogunlukların değişiklik gösterdiği bildirilmiştir (31).

Periakuaduktal gri madde, nukleus raphe magnus, medial talamus ve LC gibi supraspinal analjezide rol oynayan yapılarda daha yoğun olarak bulunan μ opioid reseptörleri ağrı uyarısının supraspinal düzeydeki aşırımının baskılanmasına aracılık eder. PAG'ın uyarılması analjezi oluşturmaktadır (20, 39, 91). Ayrıca μ reseptörlerinin beyindeki kolinerjik sinir uçlarında, dopaminerjik nöronlarda, bazal gangliyonlarda ve kaudat putamende de yoğun olarak bulunduğu gösterilmiştir. Kaudat nükleus, bazal ganglia (globus pallidus ve striatum) gibi yapılarda opioidlerin etkisi ekstrapiramidal motor aktivite kontrolü ve nigrostriatal yolakta dopamin salınımının inhibisyonu şeklindedir. Ayrıca opioidlerin pozitif pekiştirici, iştah artırıcı ve dipsojenik etkileri de vardır.

Omurilik arka boynuzunda, özellikle de dorsal boynuzda substantia gelatinosada 1. sıra nöron ucu ve ikinci nörondan başka, ağrı ile ilgili olan üçüncü bir yapı vardır; bu enkefalinerjik ara nöronlardır. Bu ara nöronlar presinaptik uçla aksoaksonik sinaps yaparlar; ara nöronlardan salınan enkefalinler, δ ve κ reseptörler aracılığıyla hem presinaptik inhibisyon (nörotransmiter sentezinde azalma), hem de postsinaptik

inhibisyon yaparak birinci nörondan ikinciye ağrı impulsu aşırımını baskılar (50) (Bkz. Şekil 2).



Şekil 2 : Opioid reseptörlerin nörondaki lokalizasyonu (97)

κ opioid reseptörlerini ise serebral korteksin derin tabakalarındaki nöronlarda ve omurilik arka boynuzunda ağrı iletisini sağlayan birinci duyusal nöronların akson uçlarında δ resptörleri ile birlikte, serebellum ve striatumdaki nöronlarda saptanmıştır. Serebral kortekste bulunan κ reseptörlerin morfin ve benzeri opioidlerin yaptığı sedasyondan, omurilik arka boynuzundaki κ reseptörlerin ise spinal analjezide rolü olabileceği ileri sürülmektedir (21).

κ agonistleri ve yüksek konsantrasyondaki morfin, κ reseptörleri aracılığıyla arka boynuzdaki primer aferent sinir uçlarını stimüle ederek P maddesi (SP) salınımını artırır. Glutamat ve SP omurilikte ağrının iletilmesinden sorumlu olan başlıca nöromediyatörlerdir.

Beyin sapındaki opioid reseptörler termoregülasyon, solunum ve kardiyovasküler düzenlemeye etki ederler. Medulla oblangatadaki opioid reseptörleri ise öksürük refleksi ve solunum depresyonu, ayrıca emezise aracılık eder. Kolesistokinin (CCK) antiopioid etkilidir ve PAG ve omurilik arka boynuzunda morfin CCK salıverilmesini artırır. CCK antagonistlerinin morfin toleransını önlediği de gösterilmiştir (60).

Heyecan ve duygulanım ile ilgili ruhsal olayların oluşmasında ve düzenlenmesinde rol oynayan limbik sistemdeki nöronlar ise δ opioid reseptörlerince zengindir (69). Dorsomediyal talamustan kalkan talamokortikal yolaklardan frontal ve limbik kortekse

uzananların öforizan etkide görevli olduğu ve morfinin bu etkisini δ opioid reseptörler aracılığıyla oluşturduğu düşünülmektedir (17, 69).

Morfinin yaptığı sedasyon ve ilgi, dikkat, motivasyon azalması noradrenerjik nöron somalarının bulunduğu LC'un inhibisyonuna bağlıdır (75, 76) .

Hipotalamusta paraventriküler nukleustan, eminentia media'ya uzanan yolak ön hipofiz endokrin fonksiyonunu düzenler. Melatonin uygulamasının yoksunluğu baskıladığı gösterilmiştir (74). Supraoptik nukleustan infindibuluma gelen bir diğer yolak da hormon salınımını regüle etmektedir.

4.2. MORFİN

4.2.1. Tarihçesi

Haşhaş (***Papaver somniferum***) bitkisinden elde edilen afyon (***opium***) içinde en yüksek oranda bulunan alkaloiddir.

İlk kez Homeros'un Odisse'sinde M.Ö. 9.yy'da bitkisel kaynaklı *nepenthe* adlı bir ilacın sakinleştirici, sıcak duygular oluşturan ve arkasından uyku veren etkisinden bahsedilmiştir. Eski Roma kültüründe uyku tanrısı *Somnus* elinde bir kap haşhaş suyu ile tasvir edilir. M.Ö. 3.yy'da Theophrastus'un yazılarından morfinin haşhaş suyu (%10 morfin içerir) olarak kullanıldığından bahsedilmektedir. Fizyolojik etkilerinden ise ilk kez Sümerler bahsetmiştir. 2yy'da Yunanlı hekim Galenos afyonu baş ağrısı, safra kesesi koliği, böbrek taşı, epilepsi, görme bozukluğu, sağırlık, ateş ve lepra için kullanmıştır. Ayrıca astım ve konjestif kalp yetmezliği olan hastalarda yatıştırıcı etkisinden yararlanmıştır. Daha sonra Arapların bunu dizanteri hastalığının tedavisinde kullandıkları görülmektedir; ancak toksik etkilerinden dolayı gözden düşmüştür. 15.yy ve sonrasında Avrupa'da Paracelsus (1493-1541) tarafından yeniden yaygınlaştırılmıştır.

18 ve 19. yy'da Avrupa'da bir çok edebiyatçı tarafından kullanıldığı bilinmektedir. 1680'de Sydenham *"Tanrının insanların acılarını dindirmek için sunduğu çareler arasında hiçbiri afyon kadar evrensel ve faydalı değildir"* ve Sir William Osler *"Morfin tanrının kendi ilacıdır"* demişlerdir. Samuel Taylor Coleridge, Elizabeth Barret-Browning, Robert Browning gibi birçok ünlü şair ve romancının morfin bağımlısı oldukları bilinmektedir. Bu dönemde ilk olarak Dr. John Jones ***"afyon yoksunluk sendromu"nu*** tarif ederek bu konuda uyarılarda bulunmuştur (81).

Bu alkaloid, 1806'da Friedrich Sertürner tarafından ilk izole edildiğinde Yunan mitolojisindeki rüya tanrısı Morpheus'a ithafen ***morfin*** olarak adlandırılmıştır.

1853'de Alexander Wood hipodermik şırınga ile kullanılan morfinin bilinç kaybı oluşturmaksızın analjezik etki gösterdiğini bulmuştur. Ancak enjektabl morfinin en yaygın kullanıldığı dönemler 2. Dünya Savaşı ve Vietnam Savaşı'dır. Bu dönemlerden sonra bir çok askerde görülen morfin bağımlılığına *''asker hastalığı''* denilmiştir.

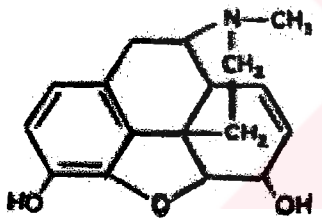
Morfinin endojen olarak sıçan beynindeki varlığı ise 1987'de Weitz ve Donnerer tarafından ileri sürülmektedir (31).

20.yy başlarında doğulu göçmenler aracılığıyla A.B.D.'de uyuşturucuların ticareti yaygınlaşmış ve bu maddenin suistimal edilmesi araştırmaları bağımlılık potansiyeli olmayan analjeziklerin sentezlenmesi çalışmalarına yöneltmiştir.

Günümüzde morfin postoperatif ağrılarda, renal kolik, terminal kanser ağrılarında kullanılmaktadır. Ancak kronik kullanımda tolerans ve bağımlılık geliştiğinden ve solunum depresyonu gibi yan etkilerinden dolayı daha kısıtlı kullanılmaktadır (81).

4.2.2. Farmakokinetik özellikleri

Morfin, im ya da sc uygulamadan sonra hızlı ve tam olarak emilir. Analjezik etkisi 20 dakikada başlar; 45-90. dakikalar arasında maksimuma ulaşır, ve etki 4-6 saat devam eder; iv uygulamada etki 1-2 dakikada başlar, 10-20 dakikada zirveye ulaşır ve çabuk sonlanır. Oral kullanımda ise ilk geçiş etkisine uğradığından biyoyararlanımı bireysel değişkenlik gösterir (% 15-64). Morfinin yarılanma ömrü 2-3.5 saattir. İyon tuzağı mekanizmasıyla mide özsuyuna geçebilir.



Şekil 3 : Morfinin kimyasal yapısı

Morfin karaciğerde büyük oranda (yaklaşık 2/3 oranında) inaktif metaboliti olan morfin-3-glukronata dönüştürülür. Daha az oranda dönüştüğü metabolitlerinden morfin-6-glukronat morfinden daha güçlü etkilidir ve SSS'ye girer. Morfin-3-sülfat da analjezik etkilidir. O-demetilasyon ile oluşan kodein ve normorfin ise antitusif etkilidir. Morfinin metabolitleri böbrekler yoluyla atılır.

4.2.3. Farmakolojik Etkileri

4.2.3.1. Analjezi

Morfin ağrının algılanmasını her zaman engellemediği halde, ağrıya bağlı reaksiyonu azaltıp, dayanma kapasitesini artırdığından hasta ağrı duysa bile kendini rahat ve huzurlu hisseder (31). Morfin analjezi oluşturan dozlarda beş duyuyu ve periferden gelen duyuları (dokunma, sıcaklık, vibrasyon) değiştirmez (70,71).

Ağrısı olan insanlarda terapötik dozlarda morfin uygulandığında görülen etki *''Ağrı hala orada ama daha az yoğun, beni rahatsız etmiyor''* şeklinde tarif edilmiştir (31). Morfin ağrısı olan kişilerde endişeyi ve ruhi gerginliği azalttığı için öfori yapabilir. Normal bireylerde ise anksiyete, korku ve disfori gibi nahoş duygular yaratır.

Morfinin analjezik etkisi spinal ve supraspinal düzeydedir (97). Ancak son yıllarda periferik analjezik etkisi de gösterilmiştir. Kısacası morfin, spinal, supraspinal ve periferik analjezik etkilerinin potansiyalizasyonu sonucu güçlü sistemik analjezik etkinlik gösterir (17).

Morfin etkisini μ, δ ve κ opioid reseptörleri aracılığıyla gösterir. Ancak esas olarak μ reseptörlerinin ligandıdır; δ ve κ afinitesi 50-100 kat daha düşüktür.

Opioid analjezisine aracılık eden başlıca merkezler (ve reseptörler) PAG (μ), RVLM (μ ve δ), substantia nigra (μ), spinal dorsal boynuz (μ, δ ve κ) olarak özetlenebilir.

Morfinin analjezik etkisinin oluşmasında rol oynayan mekanizmalar arasında primer aferent sinir uçlarında SP gibi nörotransmiterlerin salınımını inhibe etmesi, internöronlar ve nosiseptif uyarıyı beyinde üst merkezlere ileten spinotalamik yolakta IPSP oluşturması, omurilikteki nosiseptif uyarıyı inhibe eden inici aminerjik bulbospinal yolakta aktivite artışına yol açması, PAG, Raphe nukleus, LC, medulla gibi bölgelerin uyarılması sayılabilir.

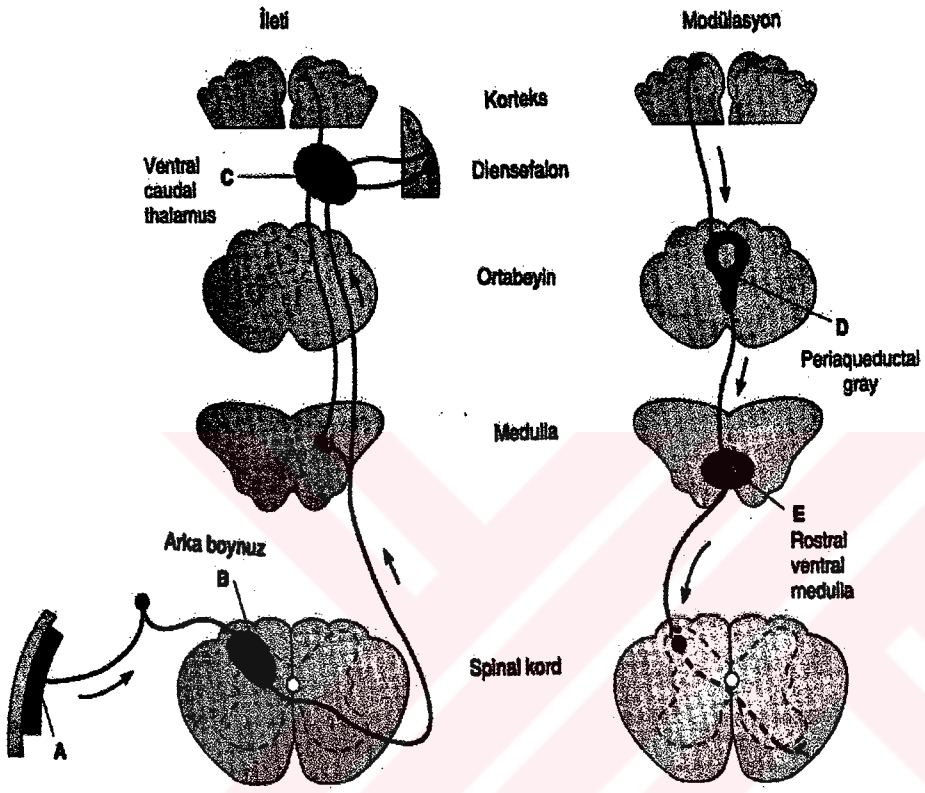
4.2.3.2. Ağrının Komponentleri

Ağrı subjektif bir olgudur. Kişiye ve koşullara göre değişkenlik gösterir (49, 57).

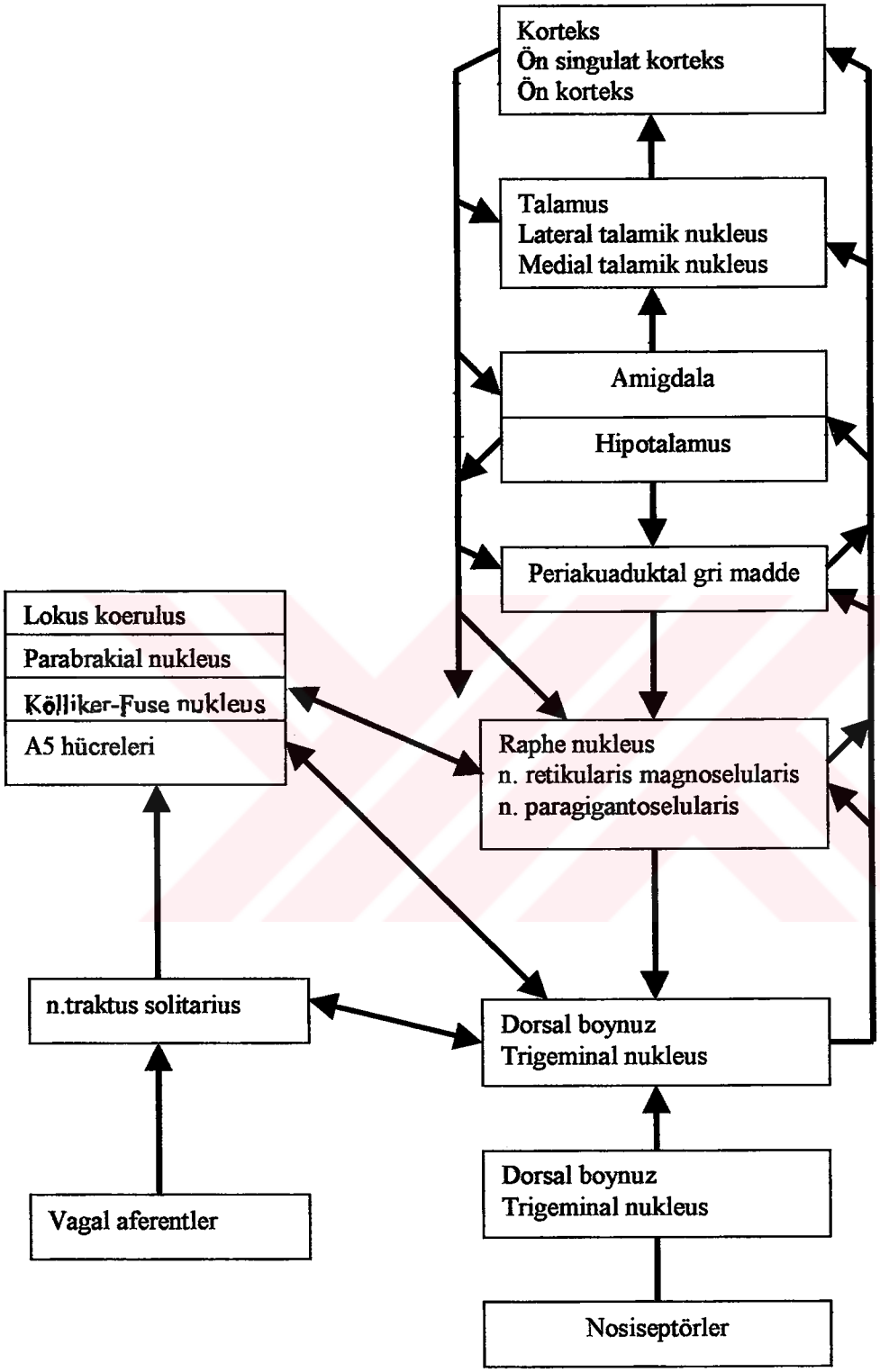
Ağrı senromu iki komponentten oluşur:

- Ağrının duyulması ve algılanması
- Ağrıya karşı reaksiyon (ağrının afektif komponenti)

Ağrının duyulması yani iletimi ve algılanması spinal, supraspinal ve periferik düzeyde gerçekleşir. Ağrılı uyarana ilişkin periferden gelen bilgi omurilik aracılığıyla beyindeki üst merkezlere iletilir; burada değerlendirildikten sonra ağrıya karşı cevap oluşur (1, 5, 41) (Bkz Şekil 4, 5).



Şekil 4 : Ağrı süreci ***(Türk Farmakoloji Derneği, Farmakoloji Ders Kitabı'ndan (Ankara, 2000) alınmıştır).***
Periferden gelen nosiseptif uyarı omurilik arka boynuzuna ulaştıktan sonra üst merkezlere iletilir. Beyinde değerlendirilen uyarıya karşı oluşan cevap inici yolaklar aracılığıyla iletilir.



Şekil 5: Ağrı yolakları (47)

4.2.3.3. Morfin Analjezisinin Etki Yerleri

Morfin analjezisinin etki yerlerinin belirlenmesi için değişik bölgelere intratekal, epidural olarak verilmiş, beyine mikroenjeksiyonla ya da periferik olarak lokal uygulanmıştır. Değerlendirmede ***tail-flick/ tail immersiyon testleri*** spinal analjezi için, ***hotplate ve formalin testleri*** ise supraspinal analjezi için kullanılmıştır (5, 43).

Yukarıda da belirtildiği gibi, morfin analjezisi spinal, supraspinal veya periferik olmak üzere 3 kademede oluşabilir. Morfin, bu üç kademedeki etkilerinin birleşmesi sonucu güçlü analjezik etkisini gösterir (17).

A. Spinal Analjezi

Omuriliğin laminaları spinal analjezide önemli rol oynar:

Lamina I: Nosiseptif spesifik ve multireseptif (WDR) nöronlarda μ, δ agonistlerin baskılayıcı etkisi vardır.

Lamina II-V: Nosiseptif uyarı κ agonistlerle inhibe olmaktadır.

Lamina II: DAMGO (μ) ve DPDPE (δ1) agonistler doza bağımlı olarak EPSP'yi azaltır.

Morfinin primer aferent nöronlarda presinaptik olarak voltaj bağımlı Ca^{2+} kanal blokajı ile SP salıverilmesini azalttığı bildirilmiştir.

Dorsal boynuz projeksiyon nöronlarında ise postsinaptik etki ile hücrenin K^{+} kanallarını aktive ederek hiperpolarizasyon oluşturup glutamat ile uyarılan nöron eksitabilitesini bloke eder.

μ ve δ agonistler C-liflerinden eksitatör aminoasit salınımını, ayrıca dorsal boynuz nöronlarının uyarılabilirliğini azaltır.

Omuriliği kesilmiş hayvanlara spinal morfin uygulaması yüksek eşikli spinal dorsal boynuz nöronlarının deşarjını inhibe eder.

B. Supraspinal Analjezi

PAG, mezensefalik retiküler formasyon, kaudal medulla (n. raphe, n. gigantoselularis), SN, n. akümbens, ventral ön beyinde μ reseptörleri predominanttır. Preoptik ve arkuat nükleusta ise μ, δ, κ reseptörleri yoğun olarak bulunur. Periferden

gelen ağrı uyarısı beyine başlıca omurilikten gelen yolaklar aracılığıyla iletildikten sonra üst merkezlerde değerlendirilir. Ağrıda rol oynayan yolaklar şunlardır:

1. ***İnici Kontrol:*** μ, δ opioid reseptörler beyin sapında spinal nosiseptif refleksi ve nöronal aktiviteyi azaltır. Supraspinal olarak düzenlenen ağrı davranışını değiştirir.
   - Seratonerjik ve noradrenerjik nöronlardan oluşan bulbospinal yolak, spinal aferent yolağın düzenlenmesini sağlar. Bulbospinal yolağın aktivasyonu spinal nosiseptif etkinliği baskılar. Spinal monoamin reseptörlerinin etkinliğinin artırılması (5-HT ve α2 adrenerjik agonistleri) ağrı davranışını inhibe eder. Beyin sapına opioid enjeksiyonu 5-HT ve noradrenalin turnoverini artırır; intratekal 5-HT ve α2 antagonistlerinin enjeksiyonu ise analjeziyi ortadan kaldırır.
   - PAG, GABAerjik nöronların modulatör etkisi altındadır. Opiatlar PAG'dan tonik GABA salınımını azaltır.
2. ***Beyin sapı- aferent uyarının inhibisyonu*** Burada spinomedüller ve spinal mezensefalik projeksiyonlar rol oynar. PAG stimulasyonu nukleus reticulo-gigantoselülaris nöronlarını inhibe eder. Medüller sistem inici yolakta rol oynar.
3. ***Aferent beyin sapının direkt inhibisyonu:*** Opioidler spinofugal terminallere presinaptik olarak bağlanarak eksitasyonun azaltılmasına yol açar.
4. ***Ön beyin:*** N. akümbens ve dorsal raphe'den çıkan sayısız rostral projeksiyonlar LC'da PAG ile birleşir ve afektif, motivasyonel merkezleri etkiler. N. akümbens, amigdala ve lateral hipotalamus afektif dengeyi ve bilinci etkileyen merkezlerdir.

C. Periferik analjezik etki

Periferik sinirlere opioid uygulaması lokal anestezik benzeri etki gösterir; ancak bu etki nalokson ile geri dönmez (83, 89). Hiperaljezik inflamasyon dokusuna lokal enjeksiyon yapılması ise ağrı eşiğini normale çevirir ve akut nosiseptif modellerde (postoperatif ağrı ve termal/mekanik/kimyasal ağrı uyaranları) gösterildiği üzere bu etki muhtemelen inflamatuar sitokinlerin baskılanmasına bağlıdır. Nöropatik ağrı, sinir ligatürasyonu ve düşük eşikli mekanoreseptörlere bağlı taktil allodini modellerinde ise

morfin etkisiz bulunduğu öne sürülmekle birlikte son yıllarda yapılan çalışmalarda bu modellerde de etkili olabileceği bildirilmiştir.

4.2.3.4. SSS üzerindeki diğer etkileri

Morfin psikomotor, kognitif, lokomotor hareketlerde azalma, çevreye ilgisizlik, konsantrasyon yeteneğinde azalma, mental bulanıklık ve sedasyon oluşturur. Libido ve seksüel performansı deprese eder. Yüksek dozda konvülsiyonlara yol açar. Ayrıca beyin sapındaki solunum merkezini deprese eder. Antitusif etkisi de bulbustaki öksürük merkezinin baskılanmasına bağlıdır (50).

Akut uygulanan morfin fare, at ve domuzda morfin çılgınlığı denilen hipereksitasyona yol açarken; sıçan, köpek, maymun ve insanda ise depresyon yapar (6).

Morfin CTZ'yi uyararak bulantı-kusma yapabilir.

Miyotik etkisi mezensefalondaki parasempetatik merkezlerin ve Edinger-Westphall çekirdeğindeki disinhibisyona bağlıdır; lokal uygulanan morfinin miyotik etkisi yoktur.

Normal dozda kalp hızı ve kan basıncını etkilemez ancak yüksek dozda bradikardi ve hipotansiyon görülür. Bu kısmen histamin salıverilmesine, kısmen de vazomotor merkezin depresyonuna bağlıdır (31).

Morfin hipotalamuski termoregülatör merkez aracılığıyla hipotermik etki gösterir. ADH, prolaktin, GH salınımını artırdığı ve ACTH, GnRH salınımını azalttığı gösterilmiştir. Ayrıca plazma katekolamin düzeyini artırdığı için hiperglisemi yapabilir (50).

4.2.3.5. Periferik Etkileri

Ağız kuruluğu yapar; mide asit salgısını, motiliteyi azaltır ve mide boşalmasını geciktirir. Kalın barsak, mide, ince barsak tonusunu artırarak spazmojenik etki gösterir. Peristaltizmi azalttığı ve anal sfinkter tonusunu artırdığı için konstipasyon yapar. Safra ve pankreas salgısını azaltır; safra koliği oluşturabilir. Hem mesanede sfinkter ve detrusor kası büzerek, hem de ADH salgısını artırarak idrar retansiyonu yapar.

Broşiyal düz kaslarda histamin deşarjı yaptığından buna bağlı olarak astım krizine yol açabilir. Uzun süreli kullanımda ise hücresel ve humoral bağışıklık sistemini baskılar (50).

4.3. TOLERANS VE FİZİKSEL BAĞIMLILIK

4.3.1. Tolerans

Tolerans : Bir ilacın ya da benzerinin belli bir süre devamlı kullanılması sonucu, başlangıçta ilaca karşı alınan farmakolojik cevabın azalmasıdır. Başlangıçtaki etkiyi oluşturmak için ilacın daha yüksek doz uygulanması gerekir. İlaçtan belli süre uzak kalınmasıyla tolerans kaybolur (31, 50).

Çapraz tolerans : Aynı farmakolojik gruptaki ilaçlar veya ilaç grupları arasında görülür. İlaçlardan birine karşı gelişen tolerans sonucu diğer bir ilaca yanıtın azalması halidir. Örneğin, alkol ve barbitüratlar

Akut tolerans (Taşiflaksi) : Hızlı gelişen duyarsızlaşmadır. Hücre membranındaki hızlı değişikliklere bağlıdır. Taşiflaksi oluşturan ilaçların bir kısmı, dokuda endojen bir maddenin salıverilmesine neden olarak etki yapar. Örneğin efedrin, tiramin gibi sempatomimetik aminlerin sık aralıklarla verilmesi bazı etkilere karşı akut tolerans oluşturur. Kokain iv enjeksiyonla kısa aralıklarla peşpeşe uygulandığında (kokain salvosu) görülür. Bu olayın tersi, sensitizasyon (ters tolerans) tır. Kokainin uzun aralıklarla kullanılması sonucu görülür. Kokain dozu sabit kaldığı halde etki güçlenir. Buna limbik sistemdeki dopaminerjik aksonlardan giderek artan miktarda dopamin salınması neden olur.

Kısmi tolerans : İlacın bazı etkilerine tolerans geliştiği halde, diğerlerine karşı tolerans gelişmemesi ya da az gelişmesidir. Örneğin, morfinin myotik ve konstipan etkilerine karşı tolerans gelişmez.

Doğuştan tolerans :Genetik polimorfizm nedeniyle o kişide maddenin dispozisyonunun hızlanmış olmasına ya da o maddenin aktive ettiği reseptörün veya post-reseptör olayların duyarlılığının düşük olmasına bağlıdır. Bu kişilerde ilacın ilk dozu bile yeteri kadar etki oluşturamaz.

Kazanılmış tolerans :

- ***Farmakokinetik (Dispozisyonel, metabolik)***: Metabolizmasının hızlanmasına veya dağılım hacminin artmasına bağlıdır.
- ***Farmakodinamik (fonksiyonel, hücresel):*** Nöronal etkiye aracılık eden reseptör sayısının azalmasına, desensitize olmasına ya da post-reseptör olaylardaki adaptif değişikliklere bağlıdır.
- ***Öğrenilmiş :***
  - ✓ ***Davranışsal:*** Madde kullanımının yol açtığı işlev bozukluğunun kullanıcı tarafından öğrenilmesi sonucu kişinin çabasıyla bastırılması durumudur. Örneğin alkoliklerde yalpalayarak yürümenin azalması
  - ✓ ***Koşullandırılmış (Duruma-özgü):*** Madde uygulamasına eşlik eden durum, ortam ve olaylar gibi çevresel ipuçlarının öğrenilmesine bağlı olarak gelişen bir koşullandırma söz konusudur. Burada madde verileceğinin habercisi olan ipuçları veya ilaç beklentisi zıt yönlü adaptif veya refleks savunma mekanizmalarını daha madde verilmeden tetikler; kullanıcının bazal durumunu değiştirir.

Opioid Toleransı

Opioidlerin tekrarlayan kullanımı sonucu ortaya çıkar. Tüm hastalarda görülen fizyolojik bir cevaptır. 1-2 haftada fiziksel bağımlılık ve tolerans gelişir. Morfinin günlük mutad dozlarda kronik uygulanması analjezi dahil santral etkilerine tolerans gelişmesine neden olur. Bu reseptör duyarlılığının azalmasına bağlı olarak gelişen farmakodinamik toleranstır (etki süresi kısalır, etki azalır; doz artırılmalıdır). Diğer narkotik analjezikler ve morfin arasında çapraz tolerans vardır.

4.3.2. BAĞIMLILIK

İlaç Suistimali : İlaç suistimali, ilacın tibbi endikasyon dışında, insanda yaptıkları keyif artırıcı, davranışsal etkileri nedeniyle tıbbi bakımdan gereksiz yere ve kişinin inisiyatifiyle kullanılmasıdır. Bu durum hekimin/sağlık personelinin tavsiye ve tarifine göre ilaç alan hastaların ilacı yanlış endikasyonda, yanlış dozda, yanlış yoldan, yanlış aralıklarla, yanlış süre kullanması gibi durumları kapsayan ilacın yanlış ya da kötü kullanılmasıyla aynı şey değildir.

Bağımlılık : İlacın tekrarlayan kullanımı sonucu görülen adaptif fizyolojik, psikolojik, biyokimyasal değişikliklere bağlı olarak ortaya çıkan biyolojik bir olaydır (6).

Bağımlılıksız (non-adiktif) kullanılış:

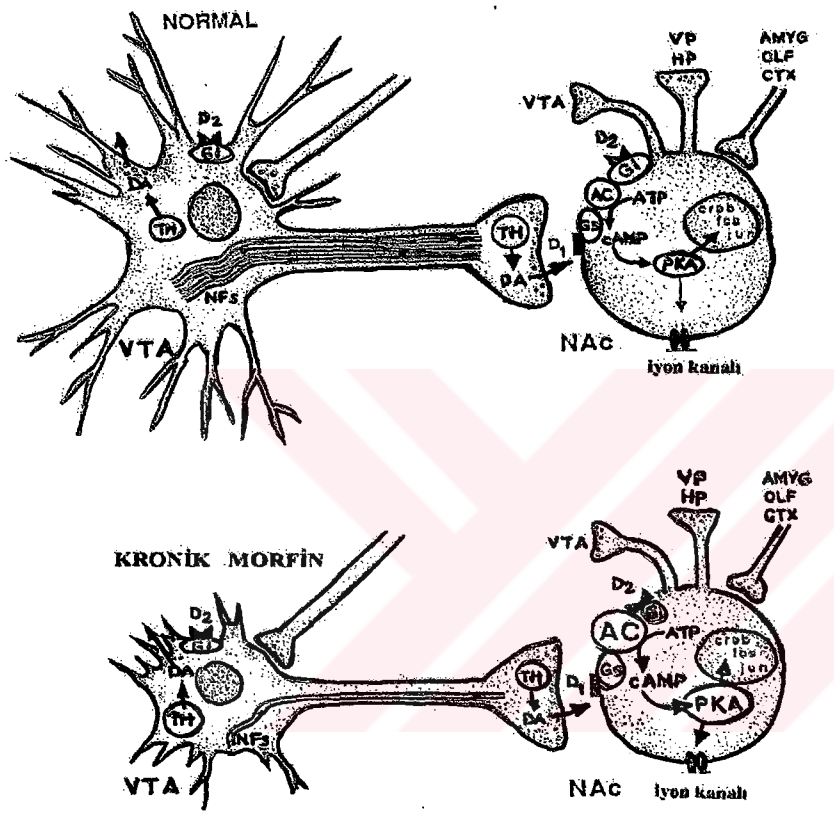
Dinlentisel (Recreational) : Bazı kişiler tarafından bağımlılık olmaksızın arasıra eğlenme ve dinlenme aracı olarak kullanılmasıdır.

Bağımlılık :

- ***Psikolojik (Psişik) Bağımlılık:*** Maddenin pozitif pekiştiri yapmasına bağlıdır. İlaca karşı özlem ve almaya devam etme arzusu vardır. İlaç arama davranışı vardır. İradenin kontrolü kaybolur. İlaç sadece psişik bağımlılık oluşturmuşsa kesilmesinin yoksunluk sendromu oluşturmadığı kabul edilir.
- ***Fiziksel Bağımlılık :*** Psişik bağımlılıktan ayrı ama çoğunlukla ona eşlik eden bir durumdur. Maddenin vücutta bulunması sonucu beyinde onun etkilediği hedef nöronlardaki reseptörlerde ya da post-reseptör olaylardaki adaptif değişikliklere bağlıdır. Maddenin etkilediği nöronların ona bir süre devamlı maruz kalması sonucu oluşan ve madde kesilmediği sürece belirtileri bastırılmış olarak kalan ve bu nedenle farkedilmeyen, madde kesilince kendini belli eden nöroadaptasyon durumudur. Bu nöroadaptasyon durumu maddeye karşı-yanıt (konradaptasyon) diye adlandırılır. İki mekanizma söz konusudur.
    a. Beyinde maddenin etkilediği hedef nöronlardaki reseptörlerde ya da bu reseptörlerle kenetli membranal efektör mekanizmalarda (AS az, iyon kanalları) ve post-reseptör olay zincirinin diğer basamaklarında adaptasyon
    b. Hedef nöronlarla ilişkili ve onların fonksiyonunu kontrol eden nöronların oluşturduğu sistemlerde adaptasyon

Bağımlılık yapıcı maddeler reseptörlerin agonistidir. Beyinde madde varlığında agonistik etkinlik ve kontradaptif değişiklikler birbirini dengeler ve yeni bir homeostaz oluşur. İlacın kesilmesi ya da antagonistinin verilmesi ile latent kontradaptif değişiklikler baskıdan kurtulur ve yoksunluk (kesilme) sendromu ortaya çıkar. Yoksunluk sendromu sırasında ortaya çıkan semptomlar agonistin yaptığı etkinin

tersinin dışa yansımasıdır. Bu nedenle yoksunluk sendromu bir rebound olay olarak kabul edilir. Madde bağımlılığında fiziksel bağımlılığın derecesi meydana gelen yoksunluk sendromunun şiddetiyle ölçülür. Madde kullanma süresinin uzunluğu ve kullanılan günlük dozun yüksekliği ile orantılı olarak fiziksel bağımlılığın derecesi artar. Ancak bunun derecesi için bir tavan vardır. Belli bir miktarın üzerindeki dozlar için bile fiziksel bağımlılık ve yoksunluk sendromunun şiddeti aynıdır (81).



Şekil 6 : Morfinin akut ve kronik uygulanmasının nöronlardaki etkileri (67) ***Nac: nükleus akumbens, AC: adenil siklaz, VTA:ventral tegmental alan, VP: ventral pallidum,CTX: korteks, HP: hipokampus, OLF: olfaktor korteks, AMYG: amigdala, CREB, fos, jun: transkripsiyon faktörleri, NFs: nörofilament, TH: tirozin hidroksilaz, G_i, G_s: G-proteinleri, DA: dopamin, PKA:protein kinaz A***
Morfinin kronik kullanımıyla nörofilamentlerde incelme olur, NA'deki TH aktivitesi azalırken VTA'daki TH aktivitesi artar. Ayrıca adaptif olarak hücre içi adenil siklaz ve PKA aktivitesi artar.

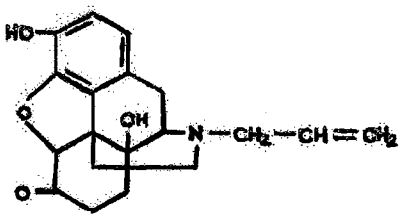
Opioid Tipi Bağımlılık

Morfin, heroin (diasetil morfin), kodein ve diğer opioid ilaçların yol açtığı bağımlılık tipidir. Bu tip bağımlılığın karekteristik özellikleri şunlardır:

1. Genellikle kompülsiyon derecesinde ilaç özlemi ve dolayısıyla güçlü psişik bağımlılık vardır. İlacı bıraktıktan sonra yeniden başlama oranı yüksektir.

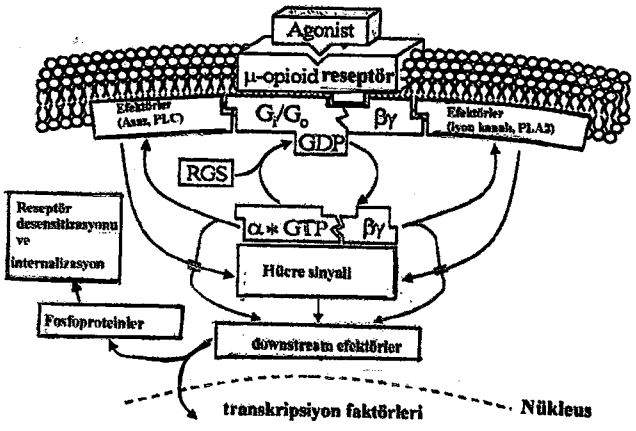
2. Fiziksel bağımlılık erken başlar ve beraberinde tolerans gelişir. Kullanma süresi arttıkça bağımlılık ve toleransın derecesi paralel artar. 7-10 gün devamlı opioid uygulanması, ilaç kesildiğinde hafif fakat farkedilebilir yoksunluk belirtilerine yol açar (6). İnsanda tek doz morfin uygulamasından 6-8 saat sonra uygulanan naloksonun hafif yoksunluk belirtileri ortaya çıkarmasına dayanarak ilk dozdan itibaren fiziksel bağımlılığın başladığı öne sürülmüştür. Bağımlılarda günlük doz, mutad dozun 125 katına (4-5g) kadar çıkabilir. Ancak fiziksel bağımlılığın derecesi ve yoksunluğun şiddeti 500 mg'ın üzerinde morfin kullananlarda, ister, 1 ister 3g kullanılsın aynıdır (18).
3. Opioidlere karşı kısmi tolerans gelişir. Opioidlerin öfori, sedasyon ve diğer SSS etkilerine karşı tolerans geliştiği halde miyotik ve konstipan etkilerine karşı tolerans gelişmez.
4. Opioidlere karşı gelişen bağımlılık hızlı/erken tip bağımlılıktır. Opioidlerin ani kesilmesi şiddeti kişiye ve bağımlılık derecesine göre değişen bir yoksunluk sendromuna neden olur. Bu yüzden kullanıma son verilecekse doz her gün % 50 azaltılarak bırakılır.
5. Morfin ve heroin gibi güçlü opioidleri kullananlarda daha belirgin olmak üzere ilacın kesilmesi son dozdan 8-10 saat sonra başlayan akut yoksunluk sendromuna neden olur. Islak belirtiler olarak bilinen lakrimasyon, rinore ve esneme, sempatik hiperaktivite ile seyreden dönemi takiben kişi uykuya dalar; 12-14 saat uykudan sonra perişan halde kalkar. İrritabilite, tremor, midriasis, kan basıncında artma, taşikardi, kaz derisi, bulantı-kusma, hapşırma, diyare, karın krampları, kas ağrıları, bacaklarda klonik kasılma, ejekülasyon, daha az sıklıkla da ölüm meydana gelir (8). Yoksunluk sendromunun belirtileri 36-72 saatte maksimuma ulaşır. Akut dönem 7-10 günde geçer. Yoksunluk küçük dozlarda morfin verilmesi ile baskılanabilir. Kronik yoksunluk dönemi 26-30 hafta devam eder. Bu dönemde hipotansiyon, bradikardi, hipotermi, midriasis, solunum merkezinin CO_2 duyarlılığının azalması gibi hafif belirtiler vardır (50).
6. Çeşitli opioid ilaçların bağımlılık yapma potansiyelleri farklıdır (31).: Heroin > Morfin > Kodein.

7. Opioidler arasında ***çapraz bağımlılık*** yani bu gruptan bir ilaca bağımlı bir kişide benzer bir diğer türev yoksunluk belirtilerini giderebilir. Bu özellikten tedavide (metadonla idame tedavisi) yararlanılmaktadır (6). Çapraz bağımlılık kismi veya tam olabilir.
8. Deneysel olarak opioid reseptörlerinin antagonisti olan nalokson (Bkz. Şekil 7) uygulanarak yoksunluk sendromu ortaya çıkarılabilir (27).



Şekil 7 : Nalokson'un kimyasal yapısı

Nalokson hızlı başlayan ve kısa süren yoksunluk oluşturur. Etkisi 1-2 dakikada başlar ve 30 dakika sürer. Tek başına normal kişide farmakolojik etki oluşturmaz. Deney hayvanlarında kullanılan doza göre analjezik/antianaljezik etkinlik gösterebilir. PAG ve beyin sapında elektriksel stimülasyonla oluşturulan analjeziyi antagonize eder (50). μ, δ ve κ reseptörlerinin tam antagonistir; ancak μ'ye daha fazla afinitesi vardır. Morfin intoksikasyonunda solunum depresyonuna karşı kullanılır. Nalokson tolerans ve bağımlılık oluşturmaz. Opioid ilacın kesilmesindeki semptomlar α2 adrenerjik nöronlarda opioid reseptörler üzerindeki inhibisyonun ortadan kalkmasına bağlıdır (16).



Şekil 8 : μ opioid reseptörlerin agonist ile aktivasyonu (84) ***PLA2: fosfolipaz A', PLC: fosfolipaz C, GDP: guanozin difosfat, GTP: guanozin trifosfat, ASaz: adenilat siklaz***

4.3.3. Fiziksel Bağımlılık Ve Tolerans Arasındaki İlişki

Fiziksel bağımlılık yapan maddelerden bazılarına (opioidler, alkol) karşı fiziksel bağımlılığın derecesine paralel bir derecede tolerans meydana gelir. Bu durum fiziksel bağımlılıkla toleransın beyinde aynı mekanizmalarla oluştuğunu düşündürmektedir (2, 16, 18, 19, 53, 65, 67).

NMDA antagonistleri ve NOS inhibitörlerinin hem toleransı hem de bağımlılığı önlediği gösterilmiştir. Bu çalışmalar şu açıdan önemlidir; tolerans ve bağımlılık içiçe geçmiş durumlardır. Ağrı bundan ayrı bir mekanizmadır. Gelecekte saf analjezik etkili ilaçlar bulunabilir (64).

4.3.4. Fiziksel Bağımlılık Ve Tolerans Gelişme Mekanizmaları

Opioid tipi bağımlılık / tolerans mekanizmaları (Bkz Tablo 3) hakkındaki başlıca teoriler şunlardır (54) :

- ***İnhibitör nöromediatörün sentez/ salınımının azaltılması :*** Opioiderjik sinir yolaklarında presinaptik uçtan salınan opioid peptidler hem postsinaptik primer inhibitör etki gösterir, hem de presinaptik otoreseptörler ile kendi salıverilmesini frenler. Morfin de bu şekilde etki eder. Morfin presinaptik otoreseptörleri etkileyerek endojen opioidlerin salınımını aşırı derecede azaltır. Sonuçta ilaca karşı tolerans gelişir. Uzun süre morfin verilmesi striatumda proenkefalin sentezini azaltır. Morfin kesildiğinde inhibitör yolak üzerindeki baskı kalkar ve endojen opioidler de çok azalmış olduğundan onlar da yolakta inhibisyon yapamaz. Böylece yoksunluk sırasındaki eksitasyon belirtileri ortaya çıkar. Birkaç günde nöromediyatör sentezi ilaçtan önceki düzeyine çıkar, yolağı inhibe eder ve eksitasyon belirtileri kaybolur.
- ***Sinyal transdüksiyon sisteminin etkinliğinin latent olarak artması:*** Nöron membranında agonist ilacın reseptörü aktive etmesi, reseptörle kenetli ve ondan gelen sinyali ileten efektör makromolekülleri aktive veya inhibe eder. İlacın uzun süre uygulanması reseptörlerde belirgin bir değişme yapmaksızın efektörün etkinliğinde kontradaptif değişikliklere yol açabilir. İlacın etkisi altında latent kalan bu değişmeler, ilaç kesildikten sonra egemen duruma geçerek yoksunluğa neden olurlar (Bkz Şekil 8). Morfin LC'da adenilat siklaz'ı inhibe ederek nöron

YÜKSEKÖĞRETİM KURULU DOKÜMANTASYON MERKEZİ
TEZ VERİ FORMU

Tez No: Konu: Üniv.kodu:

Not: Bu bölüm merkezimiz tarafından doldurulacaktır.

Tezin yazarının
Soyadı : ALTUNBAŞ Adı: HALE ZERRİN

Tezin Türkçe adı: "Glutamat salınım inhibitörü riluzolün farelerde morfine tolerans ve bağımlılık gelişmesine etkisi"

Tezin Yabancı adı: "The effect of glutamate release inhibitor riluzole on the development of morphine tolerance and dependence in mice"

Tezin yapıldığı

Üniversite: Marmara Üniversitesi Enstitüsü Sağlık Bilimleri Yılı: 2001
Diğer Kuruluşlar:

Tezin Türü: (1)-Yüksek Lisans Dili: Türkçe
2-Doktora Sayfa Sayısı 77
3- Tıpta Uzm.
4- Sanatta Yeterlilik

Tez Danışmanlarının
Ünvanı : Adı: Soyadı:
Ünvanı: Yard. Doç. Dr. Adı: Levent Soyadı: Kabasakal

Türkçe anahtar kelimeler:

1- glutamat
2- riluzol
3- morfin
4- analjezi
5- bağımlılık

İngilizce anahtar kelimeler:

1- glutamate
2- riluzole
3- morphine
4- analgesia
5- dependence

Tarih: 29.08.2001
İmza:



inhibisyonuna neden olur. Uzun süre morfin verildiğinde kontradaptif değişiklik sonucu enzim sentezi artar, fakat ortamda morfin bulunduğu sürece artmış enzim etkinliği G_i proteini aracılığıyla baskı altında tutulur (Bkz Şekil 9). Ancak dozun artırılması gerekir ki, bu da ilaca gelişen toleransı gösterir. İlaç kesildiğinde enzim baskıdan kurtulur ve birden bol miktarda oluşan cAMP nöronları stimüle eder. Bir çalışmada yoksunluk sendromu sırasında striatal cAMP düzeyleri değişmezken serebellar hücrelerde artış görülmüştür (65). Morfin LC nöronlarını bir G proteini aracılığıyla K^+ kanallarını açarak da inhibe eder. Uzun süre morfine maruz kalma adaptif olarak reseptör ile kanal arasındaki kenetlenmenin etkinliğinde azalma yapar. Morfinin kesilmesi bu kenetlenmenin etkinliği normale dönene kadar bir süre nöronların K^+ kanalları üzerindeki inhibisyonu azaltır ve stimülasyona yol açar (74, 75).

Tablo 3 : İlaca Fiziksel Bağımlılık ve Tolerans Gelişme Mekanizmaları

İlacın etkisi,
- Nörotransmiter sentezinin,
- Reseptörlerin,
- SSS'deki birinci mekanizmaların

blokajı ile oluşabilir.

İlacın devam eden kullanımı;
- Nörotransmiter sentez enzimlerinde,
- Reseptör sayısında,
- SSS'deki ikinci mekanizmalarda

artışa neden olabilir

Bunların herbiri bazal düzeye dönmek için dengeyi sağlamaya çalışırlar. Tolerans gelişir.
Ancak tolerans geliştiğinden ilacın dozu artırılır ve bu homeostatik mekanizmalarda bazı döngüler artar. Bağımlılık oluşur.

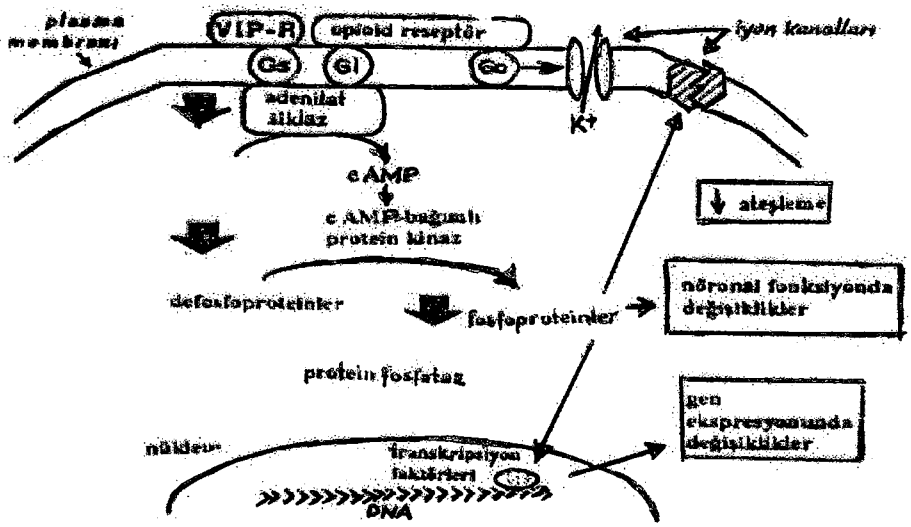
İlaç yoksunluğunda;
- Nörotansmiterlerin aşırı üretimi,
- Reseptörlerin artışı,
- Hem birinci, hem de ikinci mekanizmalarda değişiklik

Görülebilir.

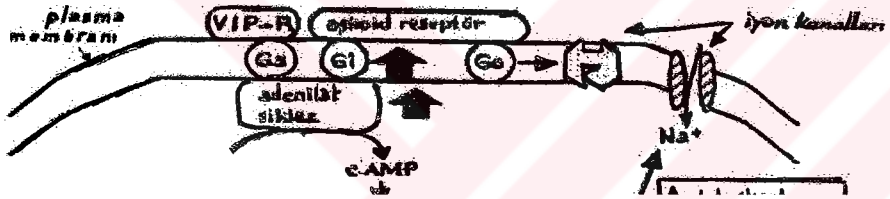
Bunların her biri ilacın asıl etkisine ters bir etki oluşturur ki, bu yoksunluk sendromudur.

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ

AKUT OPİOİD ETKİ LC

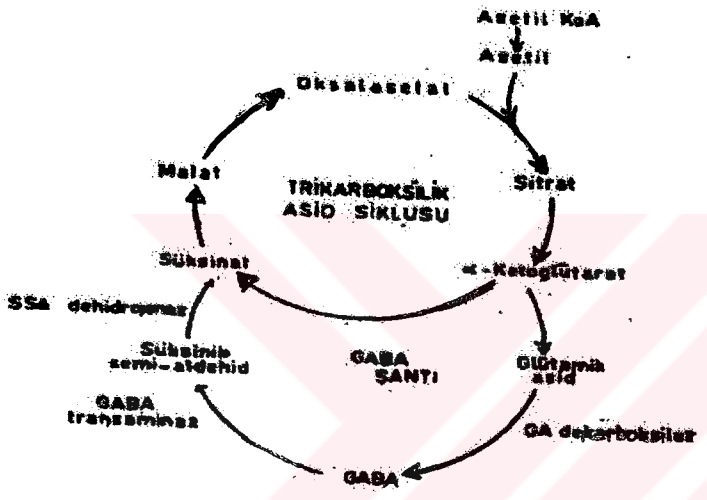


KRONİK OPİOİD ETKİ LC



4.4. GLUTAMAT

Beyin ve omurilikte bulunan eksitatör bir nöromediyatördür. Glutamik asit ya da onun iyonize şekli olan glutamat, sinir ucunda oksoglutarik asit ve glutamin ile dinamik denge halinde bulunur. Sinaptik aralığa salınan glutamik asit sinir ucuna yüksek afiniteli bir uptake mekanizması ile alınır. Glutamik asit sinir ucunda glutaminaz enzimiyle glutaminin hidrolizi sonucu oluşur (68). Sinir ucunda glutamat salınımı Ca^{2+} bağımlıdır. Glutamik asit glutamin sentetaz enzimi ile glutamine dönüştürülüp inaktive edilir (76, 77, 78).Glutamik asidin analogu olan kainik asit ufak dozlarda glutamat gibi etkinlik gösterir, konvülsiyonlara yol açar ve nörotoksisite oluşturur (85).



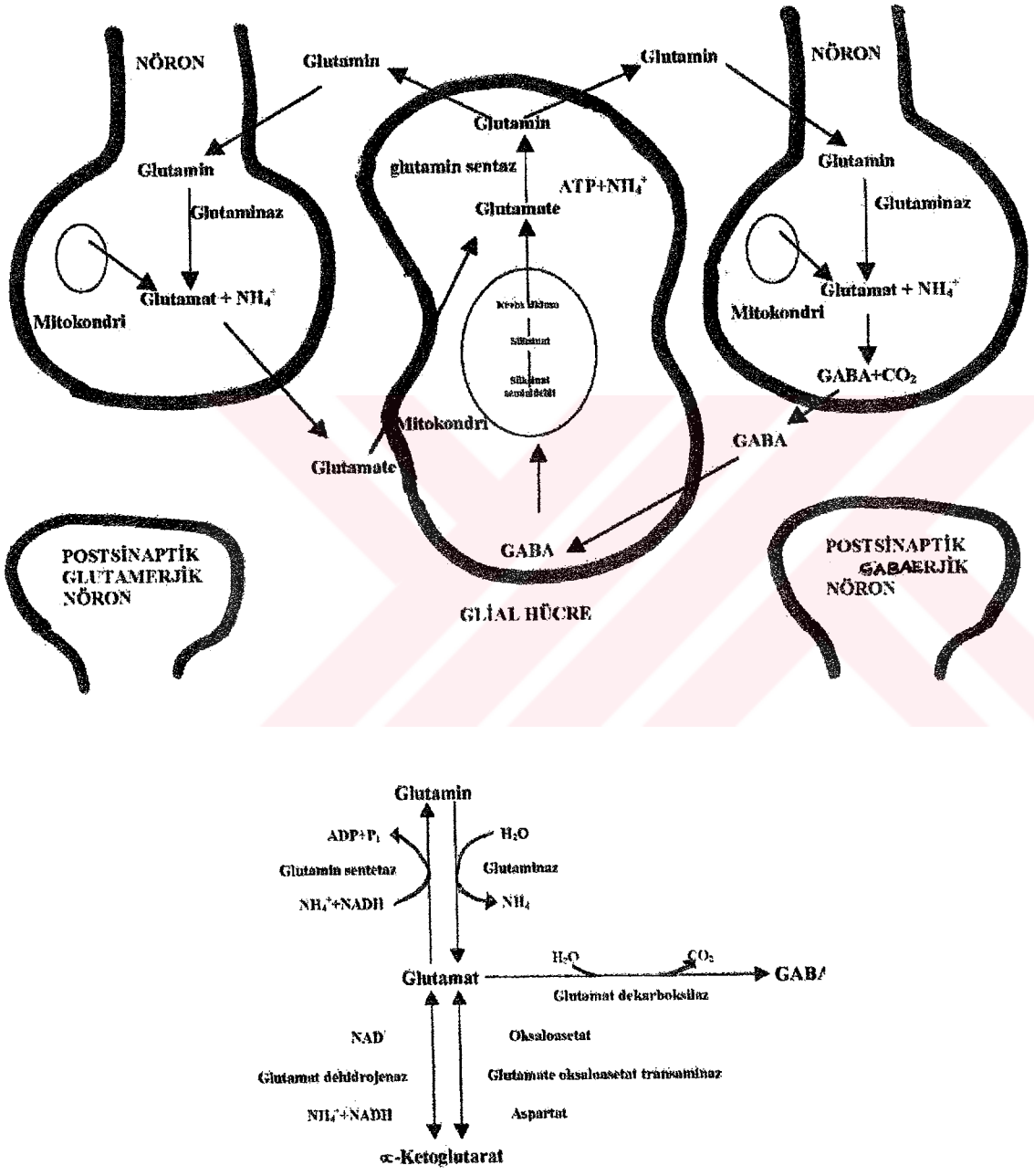
Şekil 10 : Glutamatın sentezi (50)

Glutamaterjik reseptörler 4 tiptir ve aspartata da afinite gösterirler. Bu reseptörler iyonotropik ve metabotropik olarak iki gruba ayrılır (76, 77).

- ***İyonotropik:*** İyon kanalı ile kenetli, postsinaptik reseptörlerdir. Bu grupta NMDA, AMPA, Kainat reseptörleri bulunur.
- ***Metabotropik :*** Fosfoinozitid hidrolizi aracılığıyla çalışan ve bir G-proteinine kenetli presinaptik reseptörlerdir. 8 alt tipi olan L-AP4 (2-amino-4-fosfopropiyonik asit) reseptörleri metabotropik tiptedir.

AMPA reseptörleri SSS'de yaygın olarak bulunur ve EPSP'nin hızlı komponentinden (Na^{+} akımından) sorumludur.AMPA reseptörleri düşük aşırımlı ve hızlı eksitatör postsinaptik potansiyel (EPSP) oluşturur.

NMDA reseptörleri ise uyarı frekansı arttığında devreye girer. Yavaş ama uzun süren EPSP yani uzun süreli potensiyalizasyon (long-term potentiation, LTP) oluşturur. NMDA reseptörlerinin eksitotoksisite, iskemik hasar, öğrenme–bellek, epilepsi, Huntington koresi, Alzheimer hastalığı, analjezi ve anksiyete gibi durumlardan sorumlu olduğu düşünülmektedir (76, 77).



Şekil 11 : Glutamatın salınımı ve metabolizması ***(Palmada M. 1998'den modifiye edilmiştir.)***

4.4.1. Beyin ve Omurilikte Glutamaterjik Aksonların Oluşturduğu Yolaklar

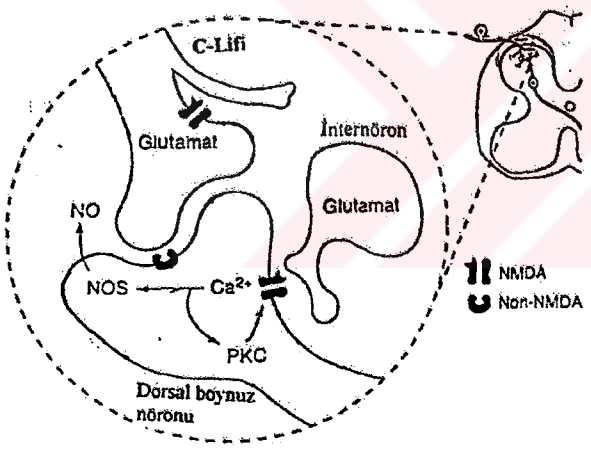
1. *Birinci Duyusal Nöronlar:* Bir kısmı omurilik dorsal boynuzunda ve diğer kısmı beyin sapında n. kuneatus ve n. graciliste bulunur. Bu çekirdeklerde impulsun 2. duyusal nörona aşırılmasından sorumlu olduğu sanılmaktadır. Dorsal boynuzda sonlanan duyusal sinir uçları ağrılı impuls aşırımında glutamat ve SP aracılığıyla rol oynar. Salıverilen glutamatın yanısıra aspartatın da postsinaptik NMDA reseptörlerini etkilediği bildirilmiştir.
2. *Vagus ve glossofaringeus sinirlerinde bulunan glutamaterjik lifler:* Baroreseptörden kalkan uyarının bulbustaki NTS' ye taşınmasından bu lifler ve SP sorumludur.
3. Omurilik arka boynuzundaki substantia gelatinosadaki ağrı impulslarının birinci sıra nöronlardan 2. sıra nöronlara aşırılmasında nörokinin ve glutamat sorumludur.
4. *Kortikostriatal, kortikokortikal ve talamokortikal yolaklar:* Frontal korteksden striatuma uzanan bu yolaktaki nigrostriatal dopaminerjik sinirler glutamat salınımını inhibe eder. Talamokortikal yolak bazal ganglia tarafından lokomotor aktivite kontrolü için önemlidir. Parkinsonizmde bu yolak hipoaktifdir. Kortikokortikal yolaklar serebral korteksle ilişkili asosiyasyon yolaklarıdır.
5. *Vizüel korteksten kaynaklanan glutamaterjik yolaklar:* n. geniculatus lateralise uzanır ve oradan superior colliculusa yayılır.
6. *Hipokampal yolaklar:* Hipokampusun CA3 bölgesi ve subikulumdaki piramidal hücrelerden lateral septum, n. akümbens ve hipotalamusa uzanır.
7. *Serebellumla ilgili yolaklar:* Serebellar korteksteki granül hücreleri glutamaterjik nöronlardan oluşur. İnferior olivada serebellar kortekse gelen tırmanıcı lifler bulunur.
8. *Diğer yolaklar:* Duyusal korteks, ventrolateral talamik nükleuslar, n. ruber ve omurilikten substantia nigraya uzanan bu yolak piramidal traktusun bir bölümünü oluşturur.

Serebral korteks, hipokampus, limbik yapılar, kortikospinal sinir uçları ve omurilikteki primer aferent sinir uçları gibi bazı yapılardaki eksitasyon/ inhibisyon olayları Glutamat/ GABA dengesine bağlıdır (63, 68).

4.4.2. Glutamat ve Ağrı

PAG'de bulunan NMDA reseptörlerinin aktivasyonu, tıpkı aynı yerdeki opioid reseptörlerinin morfin tarafından aktivasyonu gibi, omuriliğin arka boynuzuna ve RVM'ya giden inici bir antinosiseptif yolağı tetikleyerek analjezik etki yapar. Morfin ve benzeri ilaçlar tarafından NMDA reseptörlerinin indirekt olarak aktivasyonu, bu ilaçlara tolerans gelişmesinde rol oynar. Morfinle birlikte NMDA reseptör antagonisti verilmesi deney hayvanlarında morfine analjezi toleransı gelişmesini önler.

Omurilikte yüksek frekanslı C liflerinin elektriksel olarak uyarılması hiperaljezi oluşturur. Ağrı ve yüksek frekanslı C liflerinin elektriksel olarak uyarılması omurilikteki primer aferent C liflerinden glutamat salınımına neden olmaktadır. Glutamatın neden olduğu sinaptik eksitasyon non-NMDA reseptörleri aracılığıyladır. Aferent boşalımlarla uyarılan internöronlardan salınan glutamat da ikinci sıra nöronlarda NMDA reseptörleri aracılığıyla eksitasyona neden olur. Böylece hücre içi Ca^{2+} miktarı artarken PKC ve NOS aktivasyonu gerçekleşir. Salınan NO glutamat salınımın daha da artırır (98, 99) (Bkz Şekil 12).



Şekil 12 : Glutamat ve nosiseptif uyarının iletilmesi (98)
PKC: protein kinaz C, NO: nitrik oksit, NOS: nitrik oksit sentaz, NMDA: N-metil-D-aspartat reseptörleri

Yapılan çalışmalarda NMDA reseptörlerinin aktivasyonu ile ilişkili olan opioid reseptör aracılı fonksiyonların analjezi, tolerans/ bağımlılık gelişimi, lokomotor aktivite artışı olduğu gösterilmiştir (61). Selektif ve nonselektif NMDA antagonistleri tek başına analjezik ağrı eşiğini değiştirmezken, akut olarak uygulandığında morfinin analjezik etkisi azaltır (59); kronik uygulamada tolerans ve bağımlılık gelişmesi önler (32, 73, 87)

4.4.3. Glutamat ve Tolerans/Bağımlılık

Çeşitli çalışmalarda NMDA reseptörlerinin antagonize edilmesiyle opioid toleransı ve bağımlılığı gelişmesinin önlendiği gösterilmiştir (61, 72, 73). Bu etki δ ve κ agonistlere karşı gelişen tolerans/ bağımlılığa karşı daha belirgindir. μ reseptörlerinin agonisti olan morfin için ise çelişkili bulgular vardır (61).

Tekrarlayan morfin kullanımında gelişen tolerans ve bağımlılıkta μ reseptörlerinin desensitizasyonunun ve PKC (protein kinaz C) aktivitesinin önemli rol oynadığı ileri sürülmüştür. Morfine karşı tolerans gelişen hayvanlarda dorsal boynuzun I ve II. laminalarında PKA seviyesi değişmezken, Ca^{2+}/Kalmodulin kinaz ve PKC seviyelerinin arttığı, buna karşın μ reseptör mRNA miktarının azaldığı gösterilmiştir (66). Bu durum μ reseptörlerinin desensitizasyonuyla paralellik göstermektedir.

Morfin uygulamasının omurilikte endojen glutamat ve aspartat salınımını artırdığı ve NMDA reseptörlerinin cevabını şiddetlendirdiği ileri sürülmektedir. Bunu destekleyecek şekilde de yapılan nöronal düzeydeki çalışmalarda morfin uygulaması NMDA reseptörü aracılı akımları artırmıştır (62).

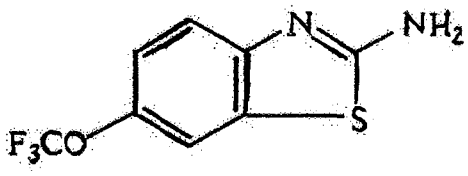
Uygulanan icv morfin LC nöronlarını G-proteinlerine bağımlı bir mekanizmayla hiperpolarize eder ve aktivitesini azaltır. Yoksunluk sendromu sırasında ise LC nöronlarının aktivitesinin arttığı bildirilmiştir (74). Aktivitedeki bu artışın ekstraselüler glutamat ve norepinefrin artışına bağlı olduğu öne sürülmüştür. Morfine bağımlı hayvanlarda icv glutamat enjeksiyonu naloksona benzer şekilde anlamlı olarak yoksunluk belirtileri ortaya çıkarmıştır; ancak diş gıcırdatma, karın germe, kilo kaybı gibi belirtiler açısından daha az değişme görülmüştür (85).

Yine aynı çalışmada yoksunluk sendromu geçiren hayvanlardan çıkarılan LC nöronlarının in vitro olarak aktive olmadığı görülmüştür. Bu durum sadece in vivo olarak görülen bu aktivasyonun LC nöronlarının aferentlerine bağlı olduğunu düşündürmüştür. LC aferentlerinin bulunduğu bölgelerden hipoglossal lezyon yoksunluk sendrmuna etkisizken, n.paragigantoselülarisin nonselektif EAA antagonisti olan kinürenik asit ile oluşturulan lezyonunun yoksunluk sendromunu baskıladığı ve LC nöronlarının aktivasyonunu engellediği bildirilmiştir (74). Bu projeksiyon nöronları non-NMDA reseptörlerinin daha yoğun olarak bulunduğu bir EAA yolağını

oluşturmaktadır. Daha sonra yapılan bir başka çalışmada ise NMDA reseptör antagonistleri olan MK-801 ve LY-274614'ün LC nöronlarının aktivasyonunu engellemediği halde yoksunluk sendromunun belirtilerini baskıladığı gösterilmiştir (75).

NMDA antagonistleri LC'deki norepinefrin turnoverinin değiştirmezken NMDA reseptörlerinin uyarılması serebral korteks ve hipokampal norepinefrin turnoverini artırır. α2 adrenerjik reseptör agonisti olan klonidin yoksunluk sendromunu baskılar (74, 75).

ilerlemesini azaltır veya yavaşlatır (34, 48, 58, 92). Ülkemizde de yaklaşık 6 aydır kullanılmaktadır. Voltaj bağımlı sodyum kanallarını bloke eder (4, 37, 82). Riluzol glutamaterjik nöronlarda presinaptik olarak glutamat salınımını ve striatal sinaptozomlarda GABA geri-alınımını inhibe eder (3, 22). Daha önce yapılmış çalışmalarda riluzolün psikotropik, antikonvülsan, hipnotik, anestezik, global iskemi modellerinde iskemik hasara karşı koruyucu ve nöroprotektif etkileri gösterilmiştir (22).



Şekil 10 : Riluzol'ün kimyasal yapısı

4.5.1. Farmakokinetik özellikleri

Fare ve sıçanlar için kullanılan deneysel dozları 1-15 mg/kg arasında değişir. 15 mg/kg'ın üzerindeki dozlarda doğrulma refleksinin kaybolmasına yol açar; anestezik etki gösterir. 4 mg/kg ip doz için E_{max} 40 dakikadır. Etkisi yaklaşık 3 saat devam eder (22).

4.5.2. Riluzolün Etki Mekanizması

Riluzolün başlıca etki mekanizması glutamaterjik impuls aşırımını bloke etmesidir (22, 58). Ayrıca farelerin beyin dokusunda aminoasitlerle uyarılan nörotransmiter salınımını da inhibe ettiği ileri sürülmektedir (46). Riluzol hipoglossal motor nöronlarda yapılan in vitro çalışmalarda NMDA ve kainat reseptörlerinin uyarılması sonucu oluşan akımları inhibe etttiği öne sürülmekle birlikte, daha sonra da yapılan hiçbir çalışmada

riluzolün NMDA, AMPA ya da kainat reseptörlerine bağlandığı gösterilememiştir (37). Bu durum riluzolün reseptörlerle olan etkileşiminin dolaylı bir etki olduğunu düşündürmektedir.

Riluzol myelinli sinir liflerinde voltaj bağımlı Na^+ kanallarını bloke ederek nöronal depolarizasyonu önler. Na^+ kanalları üzerindeki batrakotoksin-bağlanma bölgesine afinite gösterdiğinden depolarize nöronlarda da seçici etkisi vardır; aksiyon potansiyeli oluşumunu önler (4). Na^+ kanal aktivatörü olan veratridin ile indüklenen eksitotoksisiteyi riluzol hem in vitro, hem de in vivo çalışmalarda pertusis toksine bağımlı bir mekanizmayla önlediği bildirilmektedir (3, 82).

Riluzolün, sıçan serebellar granüler hücre kültüründe postsinaptik olarak glutamat ve NMDA reseptörlerinin uyarılmasına bağlı olarak oluşan Ca^{2+} mobilizasyonunu yüksek dozlarda bloke ettiği gösterilmiştir. Bu olay G proteinlerini inaktive eden pertussis toksine duyarlıdır (82).

Riluzol dorsal kök ganglion hücrelerinde hem bazal, hem de nöronal aktivasyon sonucu oluşan glutamik asit salınımını da presinaptik etkiyle ve yine pertussis toksine duyarlı bir mekanizmayla inhibe eder (3).

Sonuç olarak riluzolün 4 temel etki mekanizması olduğu ileri sürülmektedir:

1. EAA reseptörleri ile dolaylı etkileşim
2. Glutamik asit salınımının presinaptik inhibisyonu
3. Voltaj bağımlı Na^+ kanallarının blokajı ve daha yüksek dozlarda Ca^{2+} kanal blokajı
4. G-protein bağımlı sinyal transdüksiyonunun stimülasyonu

Bu mekanizmalardan ilk üçü sinerjist olarak glutamaterjik aşırımı baskılar. Ancak bu mekanizmaların birbirinden bağımsız olup olmadığı ya da ne şekilde birbirlerini modüle ettiği bilinmemektedir (22).

5. GEREÇ VE YÖNTEM

5.1. DENEY HAYVANLARI

Deneylerde her iki cinsten 20-30g ağırlığında 320 adet Balb/C fare kullanılmıştır. Hayvanlar 12:12 saat aydınlık/karanlık siklusuna uyularak, 22 ± 3 °C sıcaklıkta ve % 65-70 nem içeren bir ortamda plastik kafeslerde barındırılmıştır. Standart laboratuvar yemiyle beslenmişler ve su alımları serbest bırakılmıştır. Hayvanlar "Laboratuvar Hayvanlarının Bakım ve Kullanım İlkeleri"ne uygun koşullarda barındırılmış ve deneyler için etik kurul izni alınmıştır (Bakınız Ek-1). Tüm deneyler aynı araştırmacı tarafından yapılmıştır

5.2. KİMYASAL MADDELER

Riluzol : (Sigma-RBI, R-116) 2-amino-6-[triflorometoksi]-benzotiyazol, glutamat salınım inhibitörü

Morfin : (TMO, 98-01) Morfin hidroklorür, μ, κ, δ reseptörlerinin agonisti, narkotik analjezik

Nalokson : (Sigma, N-7758) Nalokson hidroklorür, μ, κ, δ reseptörlerinin kompetitif antagonisti

5.3. İLAÇLARIN HAZIRLANIŞI

Morfin ve nalokson % 0.9'luk izotonik NaCl çözeltisinde, riluzol ise distile suyla ultrasonik banyoda (Bransonic-221) 30 dakika karıştırılarak çözüldü. Tüm çözeltiler uygulamadan hemen önce taze olarak hazırlanmıştır.

5.4. İLAÇLARIN UYGULANMASI

Hayvanlara ilaçların parenteral olarak sabit ve mümkün olan en düşük hacimde verilebilmesi için çözeltiler 0.1ml/ 10g hayvan ağırlığı olacak şekilde hazırlanmıştır. Akut analjezi, tolerans ve bağımlılık gelişimine etkisinin değerlendirmesinde riluzolün t_{max} değerinin 40 dakika olduğu gözönüne alınarak ön-tedavi olarak riluzol her morfin'den 30 dakika önce uygulanmıştır.

Fiziksel bağımlılık geliştirilmiş hayvanlarda riluzolün yoksunluk sendromu üzerine olan etkisinin değerlendirilmesi için riluzol naloksondan 30 dakika önce uygulanmıştır.

5.5. AKUT ANALJEZİ DEĞERLENDİRMESİ

5.5.1. Hot-plate Testi

Supraspinal düzeydeki analjeziyi ölçmek için hot-plate testi kullanılmıştır (25). Hayvanlar deneyden 1-2 saat önce tartılıp işaretlendikten sonra 20 dakika ara ile iki kez 56.5 ± 1.0 derecedeki hot-plate aletinde bazal değerleri (0. dakika), arka ayağını yalama/ sıçrama süresi olarak kronometre yardımıyla ölçülerek kaydedilmiştir (Bkz Resim 1). Daha sonra ilaç enjeksiyonu yapılmış; hayvanlar belli aralıklarla (10, 25, 45, 60, 90, 120. dakikalarda) tekrar hot-plate aletine koyularak arka ayağını yalama/ sıçrama süresi ölçülmüştür (Bkz Ek-3). Eğer hayvan 20 saniyede cevap vermiyorsa cut-off kabul edilerek plakadan alınmıştır.

Deney grupları aşağıda belirtildiği şekilde oluşturulmuş ve toplam 146 adet Balb/C fare kullanılmıştır.

Kontrol : SF

Riluzol (Ril) : 0.5, 1, 2, 4, 6 mg/kg ip

Morfin (Mor) : 5 mg/kg ip

Riluzol + Morfin : Riluzolün 0.5, 1, 2, 4, 6mg/kg ip dozları 5mg/kg ip morfinden 30 dakika önce uygulanmıştır.

5.5.2. Tail-immersiyon Testi

Spinal düzeydeki analjeziyi ölçmek için kullanılmıştır (44). Hayvanlar deneyden 1-2 saat önce tartılıp işaretlendikten sonra 20 dakika ara ile iki kez 56.5 ± 1.0°C derecedeki sıcak su dolu bir banyoya kuyruklarının distal 1/3 lük kısmı daldırılarak bazal değerleri (0. dakika) kuyruk çekme süresi olarak kronometre yardımıyla kaydedilmiştir (Bkz Resim 2).

Daha sonra ilaç enjeksiyonu yapılmış; hayvanların belli aralıklarla (örneğin 10, 25, 45, 60, 90, 120. dakika) tekrar ölçümü yapılmıştır (Bkz Ek-3). Eğer hayvan 6 saniye içinde

Riluzol (Ril) : 0.5, 1, 2, 4, 6 mg/kg ip

Morfin (Mor) : 5 mg/kg ip

Riluzol + Morfin : Riluzolün 0.5, 1, 2, 4, 6mg/kg ip dozları 5mg/kg ip morfinden 30 dakika önce uygulanmıştır.

5.6. MORFİNİN ANALJEZİK ETKİSİNE TOLERANS GELİŞİMİNDE RİLUZOL'ÜN ETKİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Çalışmada riluzolün morfin analjezisine tolerans gelişimine etkisi araştırılmıştır.

Morfin Analjezi Toleransı (9 gün, S:2x1): 9 gün süreyle kronik sabit doz (5 mg/kg i.p.) morfin HCl, SF, riluzol veya riluzol ile birlikte morfin uygulanan hayvanların 1, 3, 5, 7, 9. günlerde hot-plate ve tail-immersiyon yöntemleriyle analjezi ölçümü yapılarak morfine cevabındaki değişme değerlendirilmiştir. Ölçümler her gün aynı saatte yapılmış ve günlük olarak ağırlıkları ölçülerek doz ona göre ayarlanmıştır.

Bu deneyler için gruplar aşağıdaki gibi olmak üzere toplam 48 adet Balb/C fare kullanılmıştır.

Kontrol : SF

Riluzol : 2mg/kg ip

Morfin : 5 mg/kg ip

Riluzol + Morfin : Riluzolün 2mg/kg ip dozu 5mg/kg ip morfinden 30 dakika önce uygulanmıştır.

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU DOKÜMANTASYON MERKEZİ

5.7. MORFİNLE OLUŞTURULAN FİZİKSEL BAĞIMLILIĞIN DEĞERLENDİRİLMESİ

Morfin Yoksunluk Sendromu oluşturmak için farelere günde 3 kez subkutan kronik morfin HCl veya kontrol olarak serum fizyolojik (SF) enjeksiyonu yapılmıştır. Enjeksiyon saatleri 8:00, 16:00, 2:00 olarak düzenlenmiştir. İlk gün 5 mg/kg dozdan (15 mg/kg günlük total doz) başlayarak ve her gün dozu ikiye katlayarak 7 gün enjeksiyon yapılmış, 7. günün sabahı 160 mg/kg uygulanan enjeksiyondan 3 saat sonra i.p. 1mg/kg nalokson uygulanarak yoksunluk sendromu ortaya çıkarılmıştır (27).

Nalokson enjeksiyonundan hemen sonra hayvanlar pleksiglas gözlem kafesine alınarak yoksunluk belirtileri 15 dakika süreyle kaydedilmiştir (Bkz Resim 3). Fiziksel yoksunluk belirtisi olarak kaydedilen semptomlardaki uçma/ sıçrama, ıslak köpek titremesi, ürinasyon, defekasyon, karın germe, pençe titreme sayısı ve diş gıcırdatma (0-10), diyare (0-3), pitosis (0-3) skorları kaydedilmiştir (Bakınız Ek 2).

Çalışmada riluzolün hem morfin bağımlılığı gelişimine etkisi, hem de gelişmiş olan fiziksel bağımlılıkta yoksunluk sendromunun semptomları üzerine olan etkisi araştırılmıştır. Bu amaçla iki farklı seri deney yapılmıştır.

5.7.1. Morfine Bağımlı Hayvanlarda Nalokson ile Oluşturulan Yoksunluk Sendromunda Riluzolün Etkisinin Değerlendirilmesi

7 gün kronik morfin uygulamasından sonra morfine karşı fiziksel bağımlılık oluşmuş hayvanlara naloksondan 30 dakika önce tek doz halinde riluzol verilerek yapılmıştır.

Bu deneyler için toplam 65 adet Balb/C fare kullanılmıştır. Kronik morfin uygulamasıyla fiziksel bağımlılık oluşturulmuş olan farelere 7. gün 1 mg/kg ip nalokson verilerek yoksunluk sendromu ortaya çıkarılmıştır.

Kontrol : SF

Morfin : Artan dozlarda sc morfin

Morfin + Riluzol: Riluzolün 2, 4 ve 6mg/kg ip dozları naloksondan 30 dakika önce ip olarak uygulanmıştır.

5.7.2. Morfine Bağımlılık Gelişiminde Riluzolün Etkisinin Değerlendirilmesi

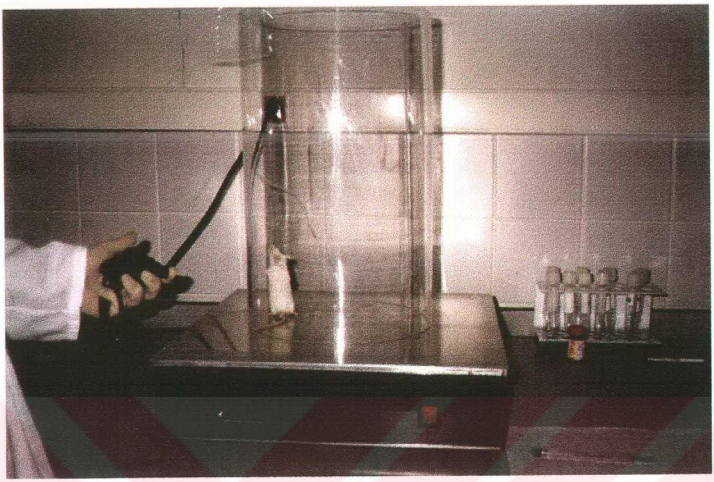
7 gün boyunca her morfin uygulamasından 30 dakika önce kronik riluzol uygulanmasıyla yapılmıştır. Bu deneyler için gruplar aşağıdaki gibi olmak üzere toplam 61 adet Balb/C fare kullanılmıştır.

Kontrol : SF

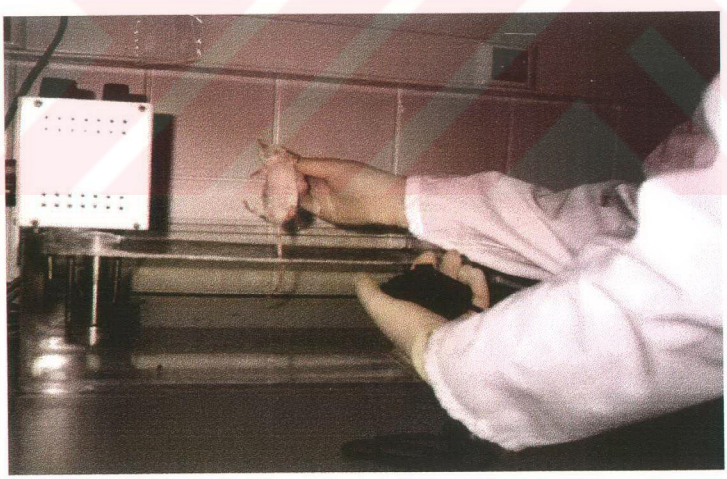
Riluzol : 1 ve 2mg/kg ip

Morfin : Artan dozlarda sc morfin

Riluzol + Morfin : Riluzolün 1 ve 2 mg/kg ip dozları her morfin uygulamasından 30 dakika önce verilmiştir.



Resim 1 : Hotplate analjezi testinin uygulanışı



Resim 2 : Tail-immersiyon analjezi testinin uygulanışı



Resim 3 : Morfin yoksunluk sendromunun değerlendirilmesi

5.8. İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME

Sonuçların değerlendirilmesinde önce grupların normal dağılıma uygunluğu incelenmiştir. Normal dağılım gösteren değişkenler için tekrarlanan ölçümlere yönelik tek yönlü ANOVA testi kullanılmıştır. Bu kriterlere uymayan değişkenler için ise nonparametrik karşılığı olan Friedman Testi ile değerlendirilmiştir.

Akut ağrı ve bağımlılık testlerinin değerlendirilmesi için gruplar arası karşılaştırmalarda tek yönlü ANOVA testinin nonparametrik karşılığı olan Kruskal-Wallis ve takiben Dunn's testi kullanılmıştır.

Analjezi değerlendirmesi için önce zamana bağlı analjezik etki grafiği çizilmiştir. Grupların bazalleri arasında fark olup olmadığı test edilmiş ve olmadığı görüldükten sonra, 0-120. dakikalar arasında her bir zamana karşılık gelen noktada gruplar karşılaştırılmıştır.. Bir grubun kendi bazaline göre değişik zamana karşı değişimi için tekrarlayan ölçümler için ANOVA testinin nonparametrik karşılığı olan Friedman testini takiben Dunn's testi kullanılmıştır.

Morfin analjezi toleransı üzerindeki etkinin değerlendirilmesi için maksimun etkinin görüldüğü 45. dakikadaki cevabın günlere göre değişim grafiği çizilmiştir.
1, 3, 5, 7, 9. günlerde aynı zaman dilimlerinde hayvanların kendi içinde günlere göre cevaptaki değişmeler Friedman tekrarlayan ölçüm testi ile, 1, 3, 5, 7, 9. günlerde aynı zaman noktalarında morfine göre değişiklikler ise Kruskal-Wallis testi ile değerlendirilmiştir.

Tüm testlerde $P< 0.05$ hata istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. Testler bilgisayarda Graph-Pad Prism 3.0 programı kullanılarak yapılmıştır.

6. BULGULAR

6.1. AKUT ANALJEZİDE RİLUZOLÜN ETKİSİ

Grupların bazal değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktur (Bkz Tablo 4).

Tablo 4 : Grupların bazal değerlerinin saniye cinsinden ortalama ± standart hata olarak karşılaştırılması

Grup	HOT-PLATE		TAIL-İMMERSİYON	
	Ortalama ± Standart hata	p	Ortalama ± Standart hata	p
Kontrol (SF) (n=12)	3.106 ± 0.320	p>0.05	0.709 ± 0.076	p>0.05
Morfin 5mg/kg (n=14)	3.285 ± 0.299	p>0.05	0.621 ± 0.047	p>0.05
Riluzol 0.5 mg/kg (n=12)	2.992 ± 0.222	p>0.05	0.657 ± 0.037	p>0.05
Riluzol 1mg/kg (n=12)	2.769 ± 0.148	p>0.05	0.664 ± 0.035	p>0.05
Riluzol 2mg/kg (n=12)	2.874 ± 0.310	p>0.05	0.719 ± 0.065	p>0.05
Riluzol 4mg/kg (n=12)	3.381 ± 0.462	p>0.05	0.734 ± 0.094	p>0.05
Riluzol 6mg/kg (n=12)	3.299 ± 0.260	p>0.05	0.683 ± 0.048	p>0.05
Riluzol 0.5+morfin (n=12)	3.237 ± 0.320	p>0.05	0.638 ± 0.034	p>0.05
Riluzol 1+morfin (n=12)	3.299 ± 0.331	p>0.05	0.667 ± 0.031	p>0.05
Riluzol 2+morfin (n=12)	3.330 ± 0.214	p>0.05	0.685 ± 0.038	p>0.05
Riluzol 4+morfin (n=12)	2.870 ± 0.304	p>0.05	0.639 ± 0.047	p>0.05
Riluzol 6+morfin (n=12)	3.207 ± 0.591	p>0.05	0.619 ± 0.070	p>0.05

Bu nedenle her bir grup kendi bazal değerlerine göre her bir zaman diliminde tekrarlayan ölçümler için ANOVA testi veya nonparametrik karşılığı olan Friedman testini takiben Dunn's testi ile karşılaştırılmıştır. Daha sonra her bir grup belli bir zaman aralığında kontrole ve morfinden önce riluzol uygulanan gruplarda morfine göre Kruskal-Wallis testi ile karşılaştırılmıştır.

Riluzol 0.5, 1, 2, 4, 6 mg/kg dozlarında tek başına kullanıldığında gerek hot-plate, gerek tail-immersiyon testlerinde etkili değildir (Bkz Tablo 5, 6 ve Şekil 14, 15).
Morfin uygulaması hot-plate ve tail-immersiyon testlerinde kendi bazal değerleri ve kontrol grubu ile karşılaştırıldığında 10-90 dakikalar arasında istatistiksel olarak anlamlı analjezi oluşturmuştur.

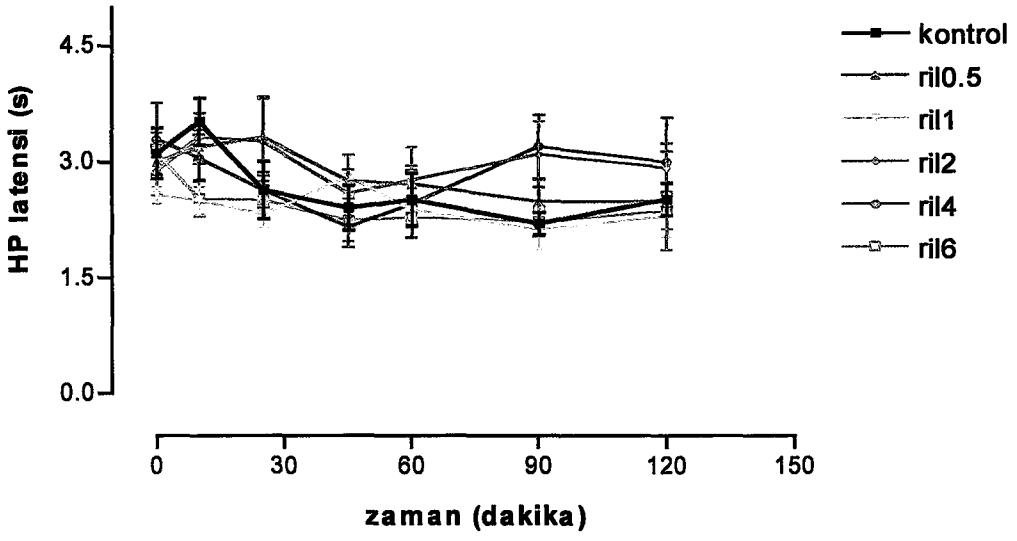
Riluzolün farklı dozları, 5 mg/kg morfin ile kombine edildiğinde morfinle karşılaştırıldığında hot-plate testinde herhangi bir etki değişimi görülmezken, tail-immersiyon testinde ise riluzol+ morfin grupları kendi bazal değeriyle karşılaştırıldığında 10. dakikadan itibaren 60. dakikaya kadar istatistiksel olarak anlamlı analjezi oluşturmuştur. Riluzol morfin analjezisini istatistiksel olarak anlamlı şekilde azaltmıştır (Bkz Tablo 7, 8 ve Şekil 16, 17).

Tablo 5 : Riluzol'ün 0.5, 1, 2, 4, 6 mg/kg dozları ve SF uygulanan farelerin hotplate testindeki sonuçlarının saniye olarak (ortalama ± standart hata) zamana bağlı olarak değişimi (p>0.05)

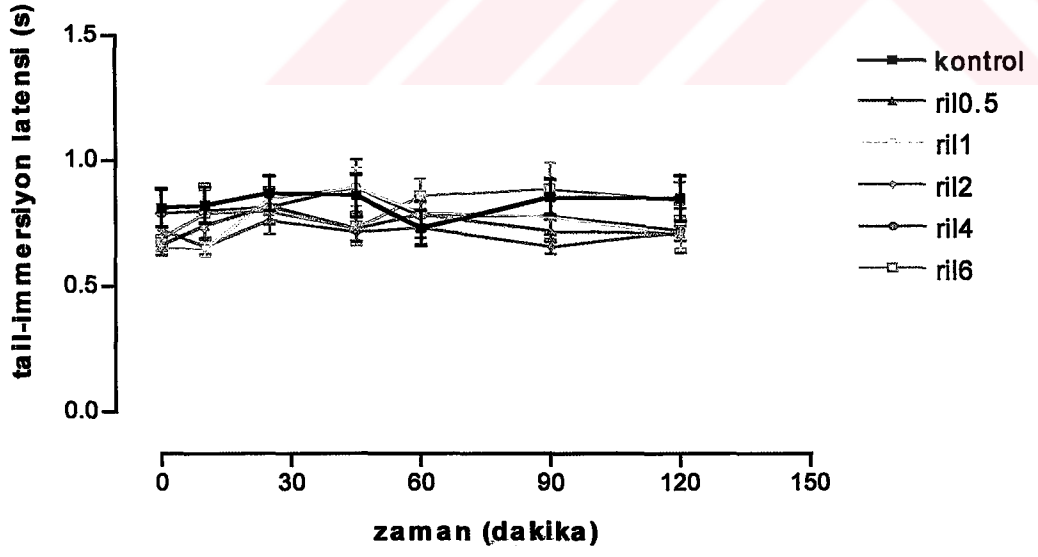
Zaman (dak)	**Kontrol** (n=12)	**Ril0.5** (n=12)	**Ril1** (n=12)	**Ril2** (n=12)	**Ril4** (n=12)	**Ril6** (n=12)
0	3.110 ± 0.329	2.992 ± 0.221	2.561 ± 0.109	2.874 ± 0.313	3.081 ± 0.465	3.099 ± 0.262
10	3.220 ± 0.303	3.186 ± 0.219	2.492 ± 0.178	3.311 ± 0.300	3.041 ± 0.298	2.519 ± 0.237
25	2.630 ± 0.368	3.309 ± 0.496	2.312 ± 0.185	3.250 ± 0.570	2.622 ± 0.227	2.489 ± 0.247
45	2.400 ± 0.290	2.739 ± 0.331	2.789 ± 0.240	2.572 ± 0.310	2.342 ± 0.266	2.429 ± 0.280
60	2.510 ± 0.338	2.701 ± 0.234	2.363 ± 0.172	2.750 ± 0.429	2.440 ± 0.436	2.471 ± 0.133
90	2.700 ± 0.145	2.580 ± 0.277	2.211 ± 0.261	2.882 ± 0.424	2.884 ± 0.413	2.113 ± 0.194
120	2.520 ± 0.210	2.482 ± 0.640	2.381 ± 0.272	2.911 ± 0.314	2.983 ± 0.579	2.152 ± 0.233

Tablo 6 : Riluzol'ün 0.5, 1, 2, 4, 6 mg/kg dozları ve SF uygulanan farelerin tail-immersiyon testindeki sonuçlarının (ortalama ± standart hata) saniye olarak zamana bağlı olarak değişimi (p>0.05)

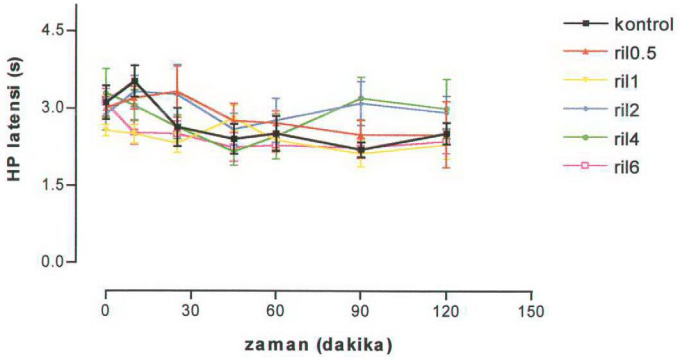
Zaman (dak)	**Kontrol** (n=12)	**Ril0.5** (n=12)	**Ril1** (n=12)	**Ril2** (n=12)	**Ril4** (n=12)	**Ril6** (n=12)
0	0.709 ± 0.076	0.657 ± 0.036	0.647 ± 0.034	0.719 ± 0.065	0.784 ± 0.094	0.683 ± 0.048
10	0.822 ± 0.073	0.735 ± 0.052	0.641 ± 0.029	0.652 ± 0.030	0.795 ± 0.109	0.784 ± 0.096
25	0.869 ± 0.070	0.815 ± 0.071	0.841 ± 0.046	0.755 ± 0.055	0.810 ± 0.070	0.793 ± 0.092
45	0.860 ± 0.083	0.724 ± 0.051	0.882 ± 0.077	0.708 ± 0.040	0.790 ± 0.108	0.723 ± 0.067
60	0.729 ± 0.070	0.782 ± 0.049	0.788 ± 0.075	0.727 ± 0.042	0.775 ± 0.059	0.753 ± 0.068
90	0.854 ± 0.072	0.715 ± 0.045	0.773 ± 0.066	0.651 ± 0.030	0.776 ± 0.078	0.782 ± 0.105
120	0.849 ± 0.090	0.690 ± 0.029	0.692 ± 0.053	0.708 ± 0.067	0.716 ± 0.088	0.736 ± 0.073



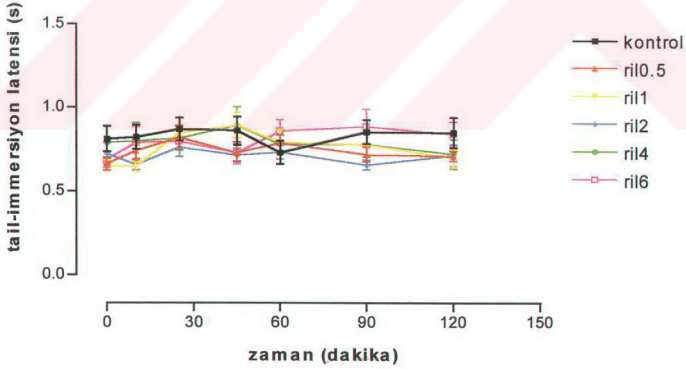
Şekil 14 :Riluzolün farklı dozlarda hot-plate analjezi testindeki akut etkileri (* : kontrole ve + kendi bazal değerlerine göre p<0.05)



Şekil 15 : Riluzolün farklı dozlarda tail-immersiyon analjezi testindeki akut etkileri (* kontrole ve + kendi bazal değerlerine göre p<0.05)



Şekil 14 :Riluzolün farklı dozlarda hot-plate analjezi testindeki akut etkileri (* : kontrole ve + kendi bazal değerlerine göre p<0.05)



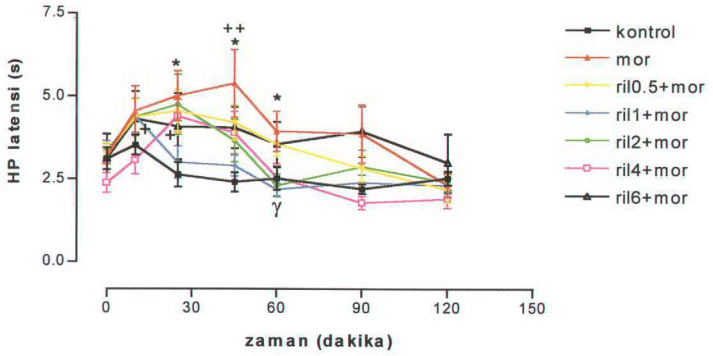
Şekil 15 : Riluzolün farklı dozlarda tail-immersiyon analjezi testindeki akut etkileri (* kontrole ve + kendi bazal değerlerine göre p<0.05)

Tablo 7 : SF, morfin (5mg/kg) ve riluzol'ün 0.5, 1, 2, 4, 6 mg/kg dozları morfinle birlikte uygulanan farelerin hotplate testindeki sonuçlarının saniye olarak (ortalama ± standart hata) zamana bağlı olarak değişimi (*: kontrole göre, γ : morfine göre, + : bazal değerine göre $p<0.05$)

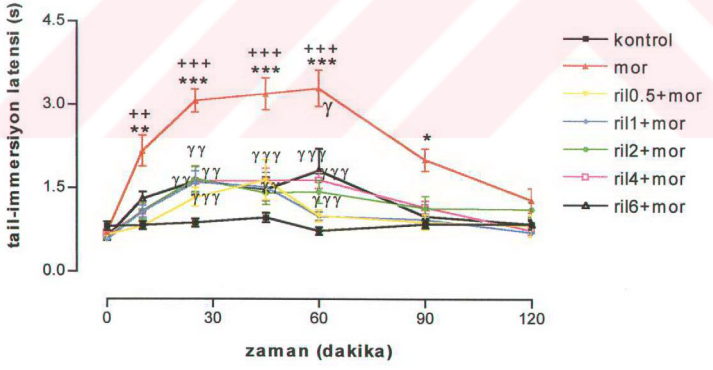
Zaman (dak)	**Kontrol** (n=12)	**Morfin** (n=14)	**Ril0.5+Morfin** (n=12)	**Ril1+Morfin** (n=12)	**Ril2+Morfin** (n=12)	**Ril4+Morfin** (n=12)	**Ril6+Morfin** (n=12)
0	3.110 ± 0.329	3.185 ± 0.252	3.237 ± 0.325	3.299 ± 0.334	3.330 ± 0.209	2.370 ± 0.294	3.130 ± 0.721
10	3.520 ± 0.303	4.527 ± 0.753	4.348 ± 0.528	4.686 ± 0.504^{+}	4.341 ± 0.562	3.050 ± 0.420	4.303 ± 0.827
25	2.630 ± 0.368	4.975 ± 0.749*	5.522 ± 0.652	2.976 ± 0.489	4.721 ± 0.909	4.371 ± 0.485^{+}	4.076 ± 0.997^{+}
45	2.400 ± 0.290	6.358 ± 1.021$^{*,++}$	4.179 ± 0.532	2.870 ± 0.313	3.628 ± 0.638	3.865 ± 0.636	4.037 ± 0.614
60	2.510 ± 0.338	3.911 ± 0.607*	3.533 ± 0.387	2.155 ± 0.194$^{\gamma}$	2.282 ± 0.340	2.530 ± 0.403	3.547 ± 0.673
90	2.200 ± 0.145	3.839 ± 0.876	2.796 ± 0.389	2.370 ± 0.222	2.842 ± 0.501	1.757 ± 0.200	3.934 ± 0.765
120	2.520 ± 0.210	2.299 ± 0.367	2.160 ± 0.384	2.072 ± 0.235	2.386 ± 0.253	1.879 ± 0.274	2.991 ± 0.867

Tablo 8 : SF, morfin (5mg/kg) ve riluzol'ün 0.5, 1, 2 ,4, 6 mg/kg dozları morfinle birlikte uygulanan farelerin tail-immersiyon testindeki sonuçlarının saniye olarak (ortalama ± standart hata) zamana bağlı olarak değişimi (*: kontrole göre, γ : morfine göre, + : bazal değerine göre $p<0.05$)

Zaman (dak)	**Kontrol** (n=12)	**Morfin** (n=14)	**Ril0.5+Morfin** (n=12)	**Ril1+Morfin** (n=12)	**Ril2+Morfin** (n=12)	**Ril4+Morfin** (n=12)	**Ril6+Morfin** (n=12)
0	0.709 ± 0.077	0.695 ± 0.047	0.638 ± 0.034	0.567 ± 0.0315	0.585 ± 0.038	0.639 ± 0.047	0.619 ± 0.070
10	0.722 ± 0.073	$2.153 \pm 0.278^{**,++}$	0.800 ± 0.058	$1.065 \pm 0.107^{++}$	1.071 ± 0.155	1.053 ± 0.152	$1.298 \pm 0.125^{++}$
25	0.769 ± 0.070	$3.052 \pm 0.202^{***,++}$	$1.319 \pm 0.168^{\gamma\gamma,++}$	$1.584 \pm 0.195^{\gamma\gamma,+++}$	$1.644 \pm 0.227^{\gamma\gamma,+++}$	$1.601 \pm 0.256^{\gamma\gamma,++}$	$1.614 \pm 0.254^{\gamma\gamma,++}$
45	0.860 ± 0.084	$3.174 \pm 0.285^{***,++}$	$1.627 \pm 0.359^{\gamma\gamma}$	$1.500 \pm 0.258^{\gamma\gamma,+++}$	$1.392 \pm 0.209^{\gamma\gamma,++}$	$1.614 \pm 0.220^{\gamma\gamma,++}$	$1.470 \pm 0.215^{\gamma\gamma,+}$
60	0.729 ± 0.070	$2.278 \pm 0.325^{***,++}$	$0.985 \pm 0.109^{\gamma\gamma}$	$0.976 \pm 0.075^{\gamma\gamma}$	$1.413 \pm 0.204^{\gamma\gamma,+++}$	$1.628 \pm 0.150^{\gamma\gamma,+++}$	$1.806 \pm 0.400^{\gamma\gamma,++}$
90	0.754 ± 0.072	$1.994 \pm 0.205^{+}$	0.873 ± 0.131	0.915 ± 0.074	1.123 ± 0.211	1.138 ± 0.115	0.984 ± 0.112
120	0.749 ± 0.090	1.268 ± 0.219	0.805 ± 0.193	0.688 ± 0.074	1.104 ± 0.130	0.723 ± 0.072	0.852 ± 0.062



Şekil 16 : Riluzol'ün farklı dozlarının morfinle kombinasyonunun hot-plate analjezi testindeki akut etkileri (* p<0.05 kontrole, + p<0.05 kendi bazal değerlerine ve γ p<0.05 morfine göre)



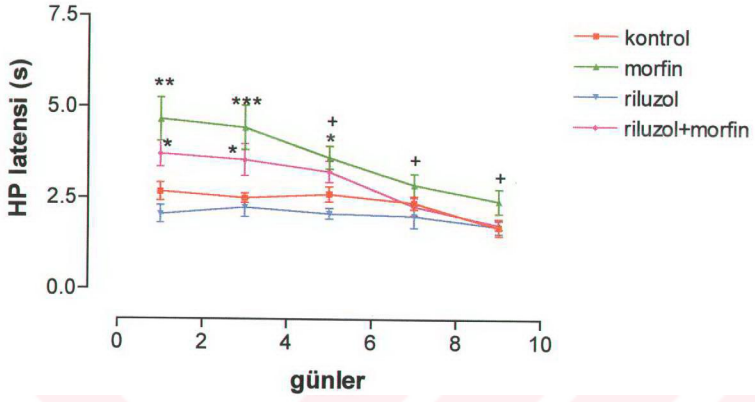
Şekil 17 : Riluzol'ün farklı dozlarının morfinle kombinasyonunun hot-plate analjezi testindeki akut etkileri (* p<0.05 kontrole, + p<0.05 kendi bazal değerlerine ve γ p<0.05 morfine göre)

6.2. MORFİNİN ANALJEZİK ETKİSİNE TOLERANS GELİŞİMİNDE RİLUZOL'ÜN ETKİSİ

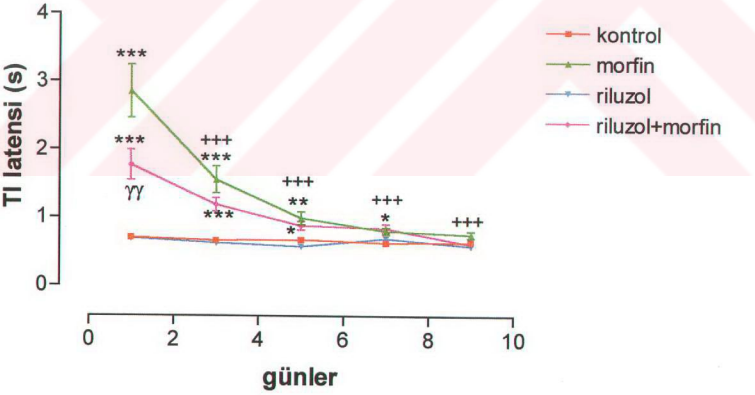
Tek başına uygulanan riluzolün her iki testte de herhangi bir etkisi yoktur ve kontrole paralel seyretmektedir (Bkz Tablo 9, 10 ve Şekil 18, 19).

Morfin, 1, 3, 5. günlerde hot-plate testinde kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı analjezi sergilemesine rağmen, bu etki özellikle 3. günden itibaren belirgin şekilde düşüş göstermektedir. Bu da tolerans gelişimine bağlıdır. Riluzol+morfin uygulanan gruplarda morfine paralel olarak düşen bir analjezi oluşturmuştur ve etki morfinden farklı değildir (Bkz Tablo 9,10 ve Şekil 18).

Tail-immersiyon testinde morfin, 1. günden itibaren 7. gün dahil olmak üzere gittikçe azalan analjezik etki oluşturmuştur. Riluzol+morfin uygulaması ilk gün morfin analjezisini anlamlı olarak azaltmıştır. Daha sonra morfinden farksız olarak morfine paralel bir seyir göstermiştir (Bkz Tablo 10 ve Şekil 19).



Şekil 18 : Riluzolün (2mg/kg ip) hot-plate testinde morfin (5 mg/kg sc) analjezi toleransı gelişmesine etkisi (Maksimum etkinin olduğu 45. dakikadaki cevabın farklı günlerdeki değişimine göre çizilmiştir.) * kontrole göre, + p<0.05 ilk güne göre, γ morfine göre p<0.05



Şekil 19 : Riluzolün (2mg/kg ip) hot-plate testinde morfin (5 mg/kg sc) analjezi toleransı gelişmesine etkisi (Maksimum etkinin olduğu 45. dakikadaki cevabın farklı günlerdeki değişimine göre çizilmiştir.) * kontrole göre, + p<0.05 ilk güne göre, γ morfine göre p<0.05

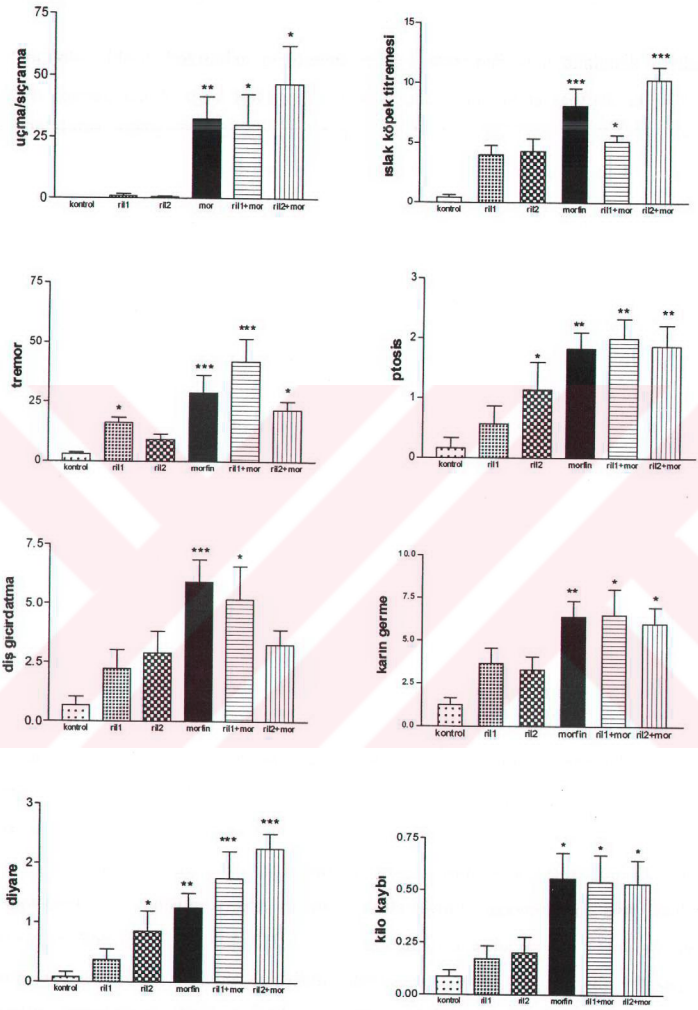
6.3. MORFİNE BAĞIMLI HAYVANLARDA NALOKSON İLE OLUŞTURULAN YOKSUNLUK SENDROMUNDA RİLUZOLÜN ETKİSİ

Kronik olarak morfin uygulanıp fiziksel bağımlılık oluşturulmuş hayvanlar, nalokson uygulandığında istatistiksel olarak anlamlı semptomlar sergilemiştir. Naloksondan önce 2, 4, 6 mg/kg riluzol uygulanması yoksunluk sendromunun semptomlarını doza bağımlı olarak artırmıştır. Ancak morfinle karşılaştırıldığında yalnızca en yüksek doz olan 6 mg/kg riluzol, morfine göre bazı semptomlar (uçma/sıçrama, ıslak köpek titremesi, tremor, ptosis) açısından anlamlı bulunmuştur. Karın germe, diş gıcırdatma, diyare gibi semptomlarda da artış olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlılık yoktur. Kilo kaybı açısından morfin ve morfin+riluzol grupları arasında fark yoktur. Ancak bu gruplar kontrolle karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı kilo kaybı vardır (Bkz. Tablo 11 ve Şekil 20).

6.4. MORFİNE BAĞIMLILIK GELİŞİMİNDE RİLUZOLÜN ETKİSİ

İlginç olarak tek başına riluzol uygulanan hayvanlarda karın germe, uçma/sıçrama, ıslak köpek titremesi, diş gıcırdatma gibi bazı yoksunluk semptomları gözlenmesine karşın bu etkiler istatistiksel olarak anlamlı değildir.

Kronik riluzol uygulaması uçma/sıçrama, ıslak köpek titremesi, tremor, ptosis ve diyareyi doza bağımlı olarak artırmıştır. Kilo kaybı açısından fark yoktur. Diş gıcırdatma, karın germe gibi semptomlar hafifçe azalmış olmakla birlikte anlamlı bir değişiklik saptanamamıştır (Bkz. Tablo 12 ve Şekil 21).



Şekil 21 : Fiziksel bağımlılık gelişimindeki etkilerinin değerlendirilmesi için morfin hergün ikiye katlanarak artan dozlarda sc olarak uygulanmış ve 7. gün 1 mg/kg ip nalokson ile yoksunluk oluşturulmuştur. (* p<0.05 kontrole ve γ p<0.05 morfine göre)

Diğer taraftan, kobay ve tavşanlarda yapılan çalışmalarda riluzol lokal anestezik etki oluşturmuş, fakat bu etki 43 mmo/L (EC_{50}) gibi yüksek bir dozda ortaya çıkmıştır (35). Değişik hayvan türlerinde yapılan çalışmalarda, glutamat reseptör antagonistlerinin tek başına ağrı eşiğinde anlamlı bir değişikliğe neden olmadıkları bildirilmiştir (59, 73, 86, 87, 96).

Çalışmamızda ayrıca, farelere akut 5 mg/kg ip morfin uygulamasının 10-120 dk aralığında analjezik etki oluşturduğu görülmüştür. Farklı dozlarda (0.5, 1, 2, 4, 6) riluzol, 5 mg/kg morfin ile birlikte uygulandığında hot-plate testiyle saptanan ağrı eşiği üzerinde anlamlı bir etki oluşturmazken, tail-immersion testinde, 10-60 dakika aralığında morfinin analjezik etkisini istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azaltmıştır. Sepulveda ve arkadaşlarının (80) Swiss Webster fareler üzerinde hot-plate testi uygulayarak yaptıkları bir çalışmada, 5 mg/kg morfin ile birlikte 0.5-2 mg/kg doz aralığında riluzol uygulamasının morfinin analjezik etkisini istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azaltığını, bununla birlikte 4 mg/kg rilozolun ise morfinin analjezik etkisini akut olarak değiştirmediğini saptamışlardır. Bu bulguların aksine, hayvanlar üzerinde yapılan pekçok çalışmada NMDA reseptör antagonistlerinin morfinin analjezik etkisini potansiyalize ettiği gösterilmiştir (7, 9, 59, 73, 86). Bu çalışmada elde ettiğimiz sonuçlar, ağrının regülasyonunda opiod sistem ile glutamerjik sistemin arasında bir etkileşme olduğunu birdiren çalışmaları desteklemektedir. Bununla birlikte, glutamerjik aşırımın salgılama düzeyinde ve reseptör düzeyinde blokajı ise analjezik etkinin düzenlenmesinde farklı etkiler oluşturduğu düşündürmektedir.

Çalışmamızın morfinin analjezik etkisine tolerans gelişimde riluzolün rolünü incelediğimiz diğer bir bölümünde; morfin tek başına 5 mg/kg dozunda ip olarak 9 gün süreyle uygulanmıştır. Bu uygulamalar sırasında yapılan analjezi ölçümleri değerlendirildiğinde morfinin analjezik etkine tolerans gelişiminin tail-immersiyon testinde 3. günde, hot-plate testinde ise 5. günde başladığı görülmüştür. Dokuzuncu günde ise her iki testte de morfinin analjezik etkisinin kontrol düzeylere indiği saptanmıştır.

Diğer bir uygulamada ise 5 mg/kg morfin, 2 mg/kp riluzol ile birlikte 9 gün süreyle uygulandığında da riluzolun, morfinin analjezik etkisine tolerans gelişiminini değiştirmediği tespit edilmiştir. Riluzol ile morfinin birlikte kronik uygulandığında, akut çalışmalardaki etkiye benzer bir şekilde kronik uygulamanın başlangıcında riluzol,

destekleyecek şekilde de yapılan nöronal düzeydeki çalışmalarda morfin uygulaması NMDA reseptörü aracılı akımları artırdığı bildirilmiştir (62).

Morfine tolerans/bağımlılık gelişmiş sıçanlara nalokson uygulamasının limbik sistem bölgesinden glutamat salınımını artırdığı gösterilmiştir (80).Diğer bir çalışmada ise, icv olarak uygulanan morfin LC nöronlarını G-proteinlerine bağımlı bir mekanizmayla hiperpolarize eder ve aktivitesini azaltır. Yoksunluk sendromu sırasında ise LC nöronlarının aktivitesinin arttığı bildirilmiştir (74). Aktivitedeki bu artışın ekstraselüler glutamat ve norepinefrin artışına bağlı olduğu öne sürülmüştür. Yine aynı çalışmada yoksunluk sendromu geçiren hayvanlardan çıkarılan LC nöronlarının in vitro olarak aktive olmadığı görülmüştür. Bu durum sadece in vivo olarak görülen bu aktivasyonun LC nöronlarının aferentlerine bağlı olduğunu düşündürmüştür. LC aferentlerinin bulunduğu bölgelerden hipoglossal lezyon yoksunluk sendromuna etkisizken, n.paragigantoselülarisin nonselektif EAA antagonisti olan kinürenik asit ile oluşturulan lezyonunun yoksunluk sendromunu baskıladığı ve LC nöronlarının aktivasyonunu engellediği bildirilmiştir (74). Bu projeksiyon nöronları non-NMDA reseptörlerinin daha yoğun olarak bulunduğu bir EAA yolağını oluşturmaktadır.

Daha sonra yapılan ve bir önceki çalışmanın devamı niteliğinde olan diğer bir çalışmada ise NMDA reseptör antagonistleri olan MK-801 ve LY-274614'ün LC nöronlarının aktivasyonunu engellemediği halde yoksunluk sendromunun belirtilerini baskıladığı gösterilmiştir (75). Bu da morfin bağımlılığında NMDA reseptörlerinin aktivasyonunun yanısıra non-NMDA reseptörlerinin de önemini göstermektedir. NMDA antagonistleri LC'deki norepinefrin turnoverinin değiştirmezken NMDA reseptörlerinin uyarılması serebral korteks ve hipokampal norepinefrin turnoverini artırır. $\alpha 2$ adrenerjik reseptör agonisti olan klonidin yoksunluk sendromunu baskıladığı bildirilmiştir (74, 75).

Tokuyama ve arkadaşları morfine bağımlı hayvanlarda icv glutamat enjeksiyonu naloksonla oluşturulan yoksunluk sendromuna benzer şekilde anlamlı olarak yoksunluk belirtileri ortaya çıkarttığını; ancak diş gıcırdatma, karın germe, kilo kaybı gibi belirtiler açısından daha az değişme görüldüğünü bildirmişlerdir (85).

Bu çalışmalar morfin yoksunluğunda glutamatın ve reseptörlerinin önemli rolü olduğuna işaret etmektedir. Bu düşünceyle çalışmamıza başlarken glutamat salgılanmasını bloke eden riluzolün morfin bağımlı hayvanlarda yoksunluk belirtilerini

önleyebileceğini düşünmüştük. Fakat elde ettiğimiz sonuçlar, morfine bağımlılık gelişimi sırasında morfinle birlikte riluzol uygulamasının veya bağımlılık geliştikten sonra naloksondan önce riluzol uygulamasının naloksonla oluşturulan yoksunluk belirtilerini baskılamadığı gibi yüksek dozlarda şiddetlenmesine de neden olmuştur. Bu etkinin oluşumunda riluzolun glutamat salgılanmasını inhibe etmesinin yanısıra diğer nörotransmiter sistemleri veya iyon kanallarını etkilemesine de bağlı olabilir.

Çalışmamızdan elde edilen veriler, glutamaterjik etkiyi glutamat reseptörlerini bloke ederek oluşturan değişik reseptör antagonistleri ile elde edilen sonuçlara uymamaktadır.

Bu faklılıklar riluzolün;

- ✓ Glutamat salgılanmasının inhibisyonu sonucu santral sinir sistemindeki nöronal iletinin düzenlenmesinde rol oynayan diğer nörotransmiter sistemleri etkilenmesine,
- ✓ Glutamat sagılanmasının inhibisyonu sonucu, glutamat reseptörlerinin sayı ve duyarlılığındaki artışa,
- ✓ Glutamatın yanısıra GABA gibi inhibitör nörotransmiterlerin salgılanmasının da inhibisyonuna,
- ✓ Glutamat salınımının inhibisyonu sonucu non-NMDA reseptörlerinin de modülatör etkisinin bloke edilmesine,
- ✓ İkinci haberci sistemler üzerindeki dolaylı bir etkisi olmasına bağlı olabilir.

Bunların yanısıra, riluzol voltaja bağımlı Na^+ kanallarını bloke ederek presinaptik nöronları stabilize etmektedir. Buna bağlı olarak presinaptik glisin salgılamasını inhibe eder. Riluzolün, glutamat aracılı eksitotoksik etkiyi bloke etmesinde, NMDA reseptör kanal aktivitesi için ko-faktör olan glisinin inhibisyonu aracılığıyla oluşturabileceği ileri sürülmektedir (90). Riluzol, presinaptik glisin salgılanmasını inhibe ederek morfine tolerans ve bağımlılık gelişmesinde önemli rolü olduğu gösterilen NMDA reseptörlerinin inaktivasyonuna neden olarak, NMDA reseptörleri aracılığıyla oluşan toleransı önleyebileceğini düşündürmektedir. Diğer taraftan riluzol glisin salınımın inhibisyonuna neden olarak nöronlarda inhibitör tonusun azalmasına, buna bağlı olarak da eksitatör aktivitenin artışına neden olabilir.

Çalışmamızda morfin bağımlı hayvanlarda nalokson ile oluşturulan yoksunluk belirtilerinin yüksek dozlarda şiddetlendirmesinin bu etkiler sonucu olabileceğini düşündürmektedir.

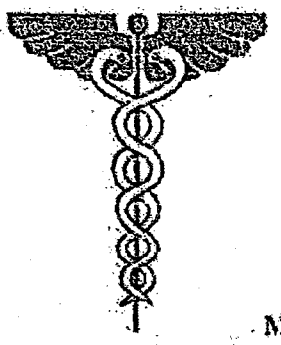
Tekrarlayan morfin kullanımında gelişen tolerans ve bağımlılıkta μ reseptörlerinin desensitizasyonunun ve PKC (protein kinaz C) aktivitesinin önemli rol oynadığı ileri sürülmüştür (14, 60, 66). Morfine karşı tolerans gelişen hayvanların beyinlerinde ve dorsal boynuzun I ve II. laminalarında PKA seviyesi değişmezken, Ca^{2+}/Kalmodulin kinaz ve PKC seviyelerinin arttığı, buna karşın μ reseptör mRNA miktarının azaldığı gösterilmiştir (66). Bu durum μ reseptörlerinin desensitizasyonuyla paralellik göstermektedir. Kronik morfin uygulamasını takiben artan PKC aktivitesi, beyindeki L tipi Ca^{2+} kanallarının sayısındaki artış ile paralellik göstermiştir (14, 60). Dolayısı ile, opioidlere tolerans gelişmiş hayvanların beynindeki intraselüler Ca^{2+} düzeyindeki artışın, PKC aktivitesinin artması sonucu L tipi Ca^{2+} kanallarının sayısının artışına bağlı olabileceği ileri sürülmektedir (60, 64). Diğer taraftan, opioidler tarafından PKC'nin aktivasyonunun, NMDA reseptörlerindeki Mg^{5+} blokunu kaldırarak NMDA aracılı Ca^{2+} inflüksünü potansiyalize etmesine bağlı olarak tolerans gelişimine neden olabileceği ileri sürülmüş ve sıçanlarda PKC aktivitesindeki artışla ilişkili tolerans gelişimi NMDA reseptör antagonisti dizosilpin ile önlenmiştir (64).

Çeşitli çalışmalarda glutamat reseptörlerinin alt tiplerini bloke eden maddelerle tolerans ve bağımlılık gelişiminin önlendiği gösterilmiştir. Bununla birlikte bizim çalışmamızda riluzol ile böyle bir etki saptanmamıştır. Aksine tolerans ve bağımlılık gelişimini artırdığı görülmüştür. Riluzol uygulaması ile glutamaterjik nöronlarda presinaptik olarak glutamat salıverilmesinin inhibisyonu postsinaptik glutamat reseptörlerinin sayı ve duyarlılığında artışa neden olabilir. Ayrıca riluzol SSS'deki diğer inhibitör sistemlerin de nöronal iletisinde değişikliklere yolaçıyor olabilir.

Sonuç olarak opioidlerin oluşturduğu analjezi, tolerans ve bağımlılık gelişiminde, opioiderjik sistemle glutamaterjik sistem arasında etkileşmelerin önemli olduğu çeşitli çalışmalarla gösterilmektedir. Bu etkide, opioiderjik sistemin glutamaterjik iletinin modülasyonunda presinaptik düzeyinde mi yoksa postsinaptik düzeyde mi etki oluşturduğunun saptanması için bu sistemleri selektif olarak etkileyen ajanlara ihtiyaç vardır ve konunun açıklık kazanması için ayrıntılı çalışmalara gereksinim duyulmaktadır.

8. EKLER

EK-1: ETİK KURUL RAPORU



MARMARA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
DENEY HAYVANLARI ETİK KURULU PROJE ONAY FORMU

ONAY NO:7.2000.mar

SAYIN: HALE Z. ALTUNBAŞ,DR.LEVENT KABASAKAL

DENEY HAYVANLARI ETİK KURULUNA "GLUTAMAT SALINIM İNHİBİTÖRLERİNİN FARELERDE MORFİNE TOLERANSVE BAĞIMLILIK GELİŞMESİNE ETKİLERİ BAŞLIKLI ARAŞTIRMA PROJESİ İÇİN 27.3.2000 TARİHİNDE YAPMIŞ OLDUĞUNUZ BAŞVURU DHEK ÜYELERİNCE İNCELENMİŞ VE 29.3.2000 TARİHİNDE ONAY ALMIŞTIR.

VET.HEK.DİLEK OZBEYLİ
DHEK YÜRÜTÜCÜ SEKRETERİ

EK-2 : YOKSUNLUK SENDROMU DEĞERLENDİRME FORMU

Araştırmacı : Hale Z. Altunbaş
Yöntem: Nalokson ile oluşturulan morfin yoksunluk sendromu (15 dak. gözlem)
Kullanılan hayvan : Balb/C mice **Cinsiyet :**
Deney adı ve tedavi : **Tarih :**

Semptomlar	Hayvan no:
Sıçrama / uçma sayısı	
Islak köpek titremesi sayısı	
Karın germe sayısı	
Urinasyon sayısı	
Defekasyon sayısı	
Diyare skoru (0-3)	
Diş gıcırdatma skoru (0-10)	
Pençe titremesi sayısı	
Ptosis skoru (0-3)	
Gözyaşı ve burun akıntısı skoru (0-3)	
Penis ereksiyonu (+/-)	
Vücut ısısı değişikliği (ΔT)	
Kilo kaybı (Δg)	

Notlar :

EK-3 : ANALJEZİ DEĞERLENDİRME FORMU

Araştırmacı : Hale Z. Altunbaş **Kullanılan hayvan :** Balb/C mice

Yöntem : Hotplate ve Tail-immersiyon analjezi testleri

Deney adı ve tedavi : **Tarih :**

Hayvan no	Cinsiyet	Ağırlık	0		10		25		45		60		90		120	
			HP	TI	HP	TI	HP	TI	HP	TI	HP	TI	HP	TI	HP	TI

Notlar :

9. KAYNAKLAR

1. Aanonsen LM, Lei S, Wilcox GL: "Excitatory aminoacid receptors and nociceptive neurotransmission in rat spinal cord". Pain 41:309-21, 1990

2. Aley KO, Levine JD:''Dissociation of tolerance and dependence for opioid peripheral antinociception in rats''. J Neurosci. 17(10): 3907-12, 1997

3. Azbill RD, Mu X, Springer JE: "Riluzole increases high-affinity glutamate uptake in rat spinal cord synaptosomes". Brain Res. 871:175-80, 2000

4. Benoit E, Escante D: "Riluzole specifically blocks inactivated Na channels in myelinated nerve fibre". Pflügers Arch. 419:603-9, 1991

5. Besson JM: ''The neurobiology of pain''. Lancet 353: 1610-5, 1999

6. Best SE, Oliveto AH, Kosten TR: "Opioid addiction". CNS Drugs 6(4): 301-14, 1996

7. Bhargava H: ''Enhancement of morphine actions in morphine-naive and morphine tolerant mice by LY 235959, a competitive antagonist of the NMDA receptor''. Gen.Pharmacol. 28(1): 61-4, 1997

8. Bianchetti A, Giudice A, Nava F, Manara L: ''Dissociation of morphine withdrawal diarrhea and jumping in mice by periferally selective opioid antagonist SR 58002 C''. Life Sci. 39: 2297-2303, 1986

9. Bilsky E, Inturrisi CE, Sadee W, Hruby VJ, Porreca F: ''Competitive and non-competitive NMDA antagonists block the development of antinociceptive tolerance to morphine, but not to μ and δ opioid agonists in mice''. Pain 68:229-37, 1996

10. Boireau A, Meunier M, Imperato A: ''Ouabain-induced increase in dopamine release from mouse striatal slices is antagonized by riluzole''. J Pharm Pharmacol 50: 1293-97, 1998

11. Carlezon WA, Haile CN, Coopersmith R et al: ''Distinct sites of opiate reward and aversion within the midbrain identified using a HSV vector expressing GluR1''. J Neurosci 20: 1-5, 2000

12. Carr DB, Goudas LC: ''Acute pain''. Lancet 353: 2051-8, 1999

13. Chapman V, Haley JE, Dickenson AH: ''Electrophysiologic analysis of preemptive effects of spinal opioids on NMDA mediated events''. Anaestesiology 81:1429-35, 1994

14. Chen L, Huang LY M: ''Sustained potentialization of NMDA receptor-mediated glutamate responses through activation of protein kinase C by a μ opioid''. Neuron 7: 319-26, 1991

15. Chen L, Gu Y, Huang LY M: ''The opioid peptide dynorphin directly blocks NMDA receptor channels in the rat''. J Physiol. 482(3): 575-81, 1995

16. Christie MJ, Williams JT, North RA: "Cellular mechanisms of opioid tolerance: studies in single brain neurons". Mol. Pharmacol. 32: 633-8, 1987

17. Christie MJ, Connor M, Vaughan CW, Ingram SL, Bagley EE: "Cellular actions of opioids and other analgesics: Implications for synergism in pain relief". Clin Exp. Pharmacol Physiol. 27:520-3, 2000

18. Clouet DH, Iwatsubo K: "Mechanisms of tolerance to and dependence on narcotic analgesic drugs". Annu Rev Pharmacol Toxicol. 15: 49-71, 1975

19. Crain SM, Shen KF: "Modulation of opioid analgesia, tolerance and dependence by G_s-coupled, GM1 ganglioside-regulated opioid receptor functions". Trend Pharmacol Sci. 19: 358-65, 1998

20. Derbyshire SWG, Jones AKP, Gyulai F, Clark S, Townsend D, Firestone LL: ''Pain processing during three levels of noxious stimulation produces differential patterns of central activity''. Pain 73: 431-45, 1997

21. Dickenson AH: ''Spinal cord pharmacology of pain''. Br J Anaesth. 75: 193-200, 1995

22. Doble A: ''The pharmacology and mechanism of action of riluzole''. Neurology 47(Suppl 4): S233-241, 1996

23. Dravolina OA, Belozertseva IV, Sukhotina IA, Bespalov AY: "Morphine tolerance and dependence in mice with history of repeated exposures to NMDA receptor channel blockers". Pharmacol Biochem Behav. 63(4): 613-9, 1999

24. Dubner R, Gold M: ''The neurobiology of pain''. Proc Natl Acad Sci 96: 7627-30, 1999

25. Eddy NB, Leimbach CE: ''Synthetic analgesics. II. Diethylbuthenyl and dithienylbutylamines''. J. Pharmacol. Exp. Ther. 107: 385-93, 1953

26. Eglen RM, Hunter JC, Dray A: ''Ions in the fire: recent ion-channel research and approaches to pain therapy''. Trend Pharmacol Sci 20: 337-42, 1999

27. El-Kadi AOS, Sharif SI: ''The role of histaminergic-noradrenergic axis in naloxone-induced withdrawal symptoms in mice''. Pharmacol Biochem Behav. 55(1): 49-54, 1996

28. Erdö SL: "Excitatory amino acid receptors in the mammalian periphery". Trend Pharmacol Sci. 12: 426-9, 1991

29. Foley KM: "Opioids". Neurol Clin. 11(3): 503-22, 1993

30. Fürst S: ''Transmitters involved in antinociception in the spinal cord''. Brain Res Bull 48(2): 129-41, 1999

31. Gilman AG: ''Goodman&Gilman's The pharmacological basis of therapeutics''. Konu 23-24, 9. Baskı, Mc Graw-Hill, 1996

32. Gonzalez P, Cabello P, Germany A, Norris B, Contreras E: ''Decrease of tolerance to, and physical dependence on morphine by, glutamate receptor antagonists''. Eur J Pharmacol 332: 257-62, 1997

33. Griesel JE, Watkins LR, Maier SF: ''Associative and non-associative mechanisms of morphine analgesic tolerance are neurochemically distinct in the rat spinal cord''. Psychopharmacol. 128: 248-55, 1996

34. Gurney ME, Fleck TJ, Himes CS, Hall ED: ''Riluzole preserves motor function in transgenic model of familial amyotrophic lateral sclerosis''. Neurol. 50: 62-6, 1998

35. Hammer NA, Lilleso J, Pedersen JL, Kehlet H: ''Effect of riluzole on acute pain and hyperalgesia in humans''. Br J Anaest 82(5): 718-22, 1999

36. Herrero JF, Laird JMA, Lopez-Garcia JA: ''Wind-up of spinal cord neurons and pain sensation: much ado about something?''. Prog Neurobiol. 61: 169-203, 2000

37. Hubert JP, Delumeau JC, glowinski J, Prémont J, Doble A: "Antagonism by riluzole of entry of calcium evoked by NMDA and veratridine in rat cultured granule cells: evidence for a dual mechanism of action". Br J Pharmacol 113:261-7, 1994

38. Hundt W, Hölter SM, Spanagel R: "Discriminative stimulus effects of glutamate release inhibitors in rats trained to discriminate ethanol". Pharmacol Biochem Behav. 59(3): 691-5, 1998

39. Hunt SP: ''Pain control: breaking the circuit''. Trend Pharmacol Sci 21: 284-6, 2000

40. Hunter JC, Atwal P, Woodruff GN, Singh L: ''Differential modulation of κ and μ opioid antinociception by the glycine/ NMDA receptor agonist D-serine''. Br J Pharmacol. 112: 1002-3, 1994

41. Iadarola MJ, Caudle RM: ''Good pain, bad pain''. Science 278: 239-40, 1997

42. Jacquet YF: "The NMDA receptor: central role in pain inhibition in rat periaqueductal gray matter". Eur J Pharmacol. 154: 271-6, 1988

43. Janicki PK, Parris WCV: ''Animal models for pain research''. Current rewiew of pain I: 271-77, 1997

44. Janssen PAJ, Neimegeers CJE, Donny JGH: ''The inhibitory effect of fentanyl and other morphine-like analgesics on the warm water induced tail withdrawal reflex in rats''. Arzneimittel Forsh. 13: 502-7, 1963

45. Jarvis MF, Yu H, Kohlhaas K ve ark: "ABT-702, a novel orally effective adenosine kinase inhibitor with analgesic and anti-inflammatory properties: I. In vitro characterization and acute antinociceptive effects in the mice". JPET, 295(3): 1156-64, 2000

46. Jehle T, Bauer J, Blauth E, Hummel A, Darstein M, Freiman TM, Freuerstein TJ: "Effects of riluzole on electrically evoked neurotransmitter release". Br J Pharmacol 130: 1227-34, 2000

47. Kanjhan R: "Opioids and pain". Clin Exp Pharmacol Physiol. 22:397-403, 1995

48. Kanthasamy AG, Yun RJ, Nguyen B, Truong DD: ''Effect of riluzole on the neurological and neuropathological changes in an animal model of cardiac arrest-induced movement disorder''. JPET 288: 1340-48, 1999

49. Kayaalp SO: ''Tıbbi Farmakoloji''.1. Cilt, 54. Konu, Hacettepe-Taş Yayınları. 9. Baskı, Ankara 2000

50. Kayaalp SO: ''Tıbbi Farmakoloji''.2. Cilt, 64 ve 65. Konular, Hacettepe-Taş Yayınları. 9. Baskı, Ankara 2000

51. Kling MA, Carson RE, Borg L ve ark. : "Opioid receptor imaging with PET and [^{18}F] cyclofoxy in long-term, methadone-treated heroin addicts". J Pharmacol Exp Ther, 295(3): 1070-6, 2000

52. Kolesnikov YA, Pick CG, Pasternak GW: ''Blockade of tolerance to morphine but not to κ opioids by a nitric oxide synthase inhibitor''. Proc Natl Acad Sci. 90: 5162-66, 1999

53. Koob GF, Bloom EF: "Cellular and molecular mechanisms of drug dependence". Science 242: 715-23, 1988

54. Koob GF, Maldonado R, Stinus L: "Neural substrates of opiate withdrawal". Trend Neurosci. 15(5): 186-191, 1992

55. Kowaluk EA, Mikusa J, Wismer CT ve ark: "ABT-702, a novel orally effective adenosine kinase inhibitor with analgesic and anti-inflammatory properties: II. In vivo characterization and acute antinociceptive effects in the mice". JPET, 295(3): 1165-74, 2000

56. Law PY, Wong YH, Loh HH: "Molecular mechanisms and regulation of opioid receptor signalling". Annu Rev Pharmacol Toxicol. 40: 389-430, 2000

57. Loeser JD, Melzack R: ''Pain: an overview''. Lancet 353: 1607-9, 1999

58. Ludolph AC: ''Therapeutic advances in amyotrophic lateral sclerosis: Focus on riluzole''. Neurology 47(6) Suppl 4, 1996

59. Lutfy K, Hurlbut DE, Weber E: "Blockade of morphine-induced analgesia and tolerance in mice by MK-801". Brain Res. 616:83-8, 1993

60. Mao J, Price DD, Mayer DJ: ''Thermal hyperalgesia in association with the development of morphine tolerance in rats: roles of excitatory aminoacid receptors and protein kinase C". J Neurosci 14(4): 2301-12, 1994

61. Mao J: "NMDA and opioid receptors: their interactions in antinociception, tolerance and neuroplasticity". Brain Res Rev. 30: 289-304, 1999

62. Martin G, Nie Z, Siggins GR: ''μ-opioid receptors modulate NMDA receptor mediated responses in nucleus accumbens neurons''. J Neurosci. 17(1): 11-22, 1997

63. Mayer ML, Miller RJ: "Excitatory amino acid receptors, second messengers and regulation of intracellular Ca^{2+} in the mammalian neurons". Trend Pharmacol Sci. 11: 254-260, 1990

64. Mayer DJ, Mao J, Holt J, Price DD: "Cellular mechanisms of neuropathic pain, morphine tolerance and their interactions". Proc Natl Acad Sci. 96: 7731-36, 1999

65. Mehta CS, Johnson WE: "Possible role of cyclic AMP and dopamine in morphine tolerance and physical dependence". Life Sci. 16(12): 1883-8, 1975

66. Mestek A, Hurley JH, Bye LS et al : ''The human μ opioid receptor: modulation of functional desensitization by calcium/calmodulin-dependent protein kinase and protein kinase C''. J Neurosci. 15(3): 2396-2406, 1995

67. Nestler EJ: "Molecular mechanisms of drug addiction". J Neurosci. 12(7): 2439-50, 1992

68. Nicholls D, Atwell D: "The release and uptake of excitatory amino acids". Trend Pharmacol Sci. 11: 462-9, 1990

69. Olson GA, Olson RD, Kastin AJ: ''Endogenous opiates: 1992''. Peptides 14: 1339-78, 1993

70. Pasternak GW: ''Pharmacological mechanisms of opioid analgesics''. Clin Neuropharmacol. 16(1): 1-18, 1993

71. Pasternak GW, Paul D: "Opioids and the control of pain". Neurotherapeutics: Emerging Strategies, 5. konu, Edit. Pullan& Patel, Humana Press Inc, 1995

72. Popik P, Skolnick P: ''The NMDA antagonist memantine blocks the expression and maintenance of morphine dependence''. Pharmacol. Biochem Behav. 53(4): 791-7, 1996

73. Popik P, Kozela E, Pilc A: "Selective agonist of group II glutamate metabotrophic receptors, LY354740, inhibits tolerance to analgesic effects of morphine in mice". Br J Pharmacol. 130: 1425-31, 2000

74. Raghavendra V, Kulkami SK: "Reversal of morphine tolerance and dependence by melatonin : possible role of central and peripheral benzodiazepine receptors". Brain Res. 834:178-81, 1999

75. Rasmussen K, Aghajanian GK ''Withdrawal-induced activation of locus coeruleus neurons in opiate-dependent rats: attenuation by lesions of the nucleus paragigantocellularis''. Brain Res. 505: 346-50, 1989

76. Rasmussen K, Fuller RW, Stockton ME ''NMDA receptor antagonists suppress behaviors but not norepinephrine turnover or locus coeruleus unit activity induced by opiate withdrawal''. Eur J Pharmacol 197: 9-16, 1991

77. Salt TE, Eaton SA: "Functions of ionotrophic and metabotrophic glutamate receptors in sensory transmission in the mammalian thalamus". Prog Neurobiol. 48: 55-72, 1996

78. Seeburg PH: "The molecular biology of mammalian glutamate receptor channels". Trend Pharmacol Sci. 14: 297-302, 1993

79. Sepulveda J, Astorga JG, Contreras E: "Riluzole decreases the abstinence syndrome and physical dependence in morphine-dependent mice". Eur J Pharmacol. 379: 59-62, 1999

80. Sepulveda MJ, Hernandez L, Rada P, Tucci S, Contreras E: "Effect of precipitated withdrawal on extracellular glutamate and aspartate in the nucleus accumbens of chronically morphine treated rats: an in vivo microdialysis study". Pharmacol Biochem Behav. 60(1): 255-62, 1998

81. Snyder SH: ''Drugs and the Brain''. Scientific American Library books, No:18 Chapter 2 HAW, 1996

82. Song JH, Huang CS, Nagata K, Yeh JZ, Narahashi T: ''Differential action of riluzole on tetrodotoxin-sensitive and tetrodotoxin-resistant sodium channels''. JPET 282: 707-14, 1997

83. Stein C: "The control of pain in peripheral tissue by opioids". New Eng J Med. 332(25): 1685-90, 1995

84. Taylor DA, Fleming WW: "Unifying perspectives of the mechanisms underlying the development of tolerance and physical dependence to opioids". JPET 297: 11-18, 2001

85. Tokuyama S, Wakabayashi H, Ho IK: "Direct evidence for a role of glutamate in the expression of the opioid withdrawal syndrome". Eur J Pharmacol. 295: 123-9, 1996

86. Trujillo KA, Akil H: "Inhibition morphine tolerance and dependence by NMDA receptor antagonist MK-801". Science 251:85-7, 1991

87. Trujillo KA: "Effects of noncompetitive NMDA receptor antagonists on opiate tolerance and physical dependence". Neuropsychopharmacol. 13(4): 301-7, 1995

88. Tzschenke TM, Schmidt WJ: "Blockade of morphine and amphetamine-induced conditioned place preference in rat by riluzole". Neurosci. Lett. 242:114-6, 1998

89. Ueda H: ''In vivo molecular signal transduction of peripheral mechanism of pain''. Jpn J Pharmacol 79: 263-8, 1999

90. Umemiya M, Berger AJ: ''Inhibition by riluzole of glycinergic postsynaptic currents in rat hypoglossal motoneurons''. Br J Pharmacol. 116: 3227-30, 1995

91. Vaughan CW, Christie MJ: ''Presynaptic inhibitory action of opioids on synaptic transmission in the rat periaqueductal gray matter in vitro''. J Physiol. 498(2): 463-72, 1997

92. Vogels OJM, Oyen WJG, Van Engelen BGM, Padberg GWAM, Horstink MWIM: ''Decreased striatal dopamine receptor binding in sporadic ALS: glutamate hyperactivity?''. Neurol. 52: 1275-77, 1999

93. Waxman SG, Dib-Haj S, Cummins TR, Black JA: ''Sodium channels and pain''. Proc Natl Acad Sci. 96: 7635-39, 1999

94. Wessinger WD: "Tolerance to and dependence on MK-801 in rats". Pharmacol Biochem Behav. 49(4): 1049-56, 1994

95. Willets J, Balster RL, Leander JD: "The behavioral pharmacology of NMDA receptor antagonists". Trend Pharmacol Sci. 11: 423-9, 1990

96. Wong CS, Cherng CH, Luk HN, Ho ST, Tung CS: ''Effect of NMDA receptor antagonists on inhibition of morphine tolerance in rats: binding at μ-opioid receptors''. Eur J Pharmacol. 297:27-33, 1996

97. Yaksh TL: ''Pharmacology and mechanisms of opioid analgesic activity''. Acta Anaesthesiol Scand 41: 94-111, 1997

98. Yaksh TL: ''Spinal systems and pain processing: development of novel analgesic drugs with mechanistically defined models''. Trend Pharmacol Sci 20: 329-36, 1999

99. Yaksh TL, Hua XY, Kalcheva I, Taguchi NN, Marsala M: ''The spinal biology in humans and animals of pain states generated by persistant small afferent input''. Proc Natl Acad Sci. 96: 7680-6, 1999

10. ÖZGEÇMİŞ

09.08.1974 tarihinde Kahramanmaraş'da doğdum. 1985'de Faik Reşit Unat İlkokulu'ndan, 1992'de Özel Moda Lisesi'nden mezun oldum. 1994 yılında Marmara Üniversitesi Eczacılık Fakültesinde lisans eğitimine başladım. 1998 yılında mezun olduktan sonra aynı yıl özel öğrenci olarak yüksek lisans eğitimine başladım. 1999 yılının Şubat döneminde M.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsünde asil öğrenci olarak yüksek lisans öğrenimime devam ettim. Halen M.Ü. Eczacılık Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalında Araştırma Görevlisi olarak çalışmaktayım.

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ'NE

Yüksek Lisans öğrencisi Hale Zerrin ALTUNBAŞ'ın, çalışması jürimiz tarafından armakoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans tezi olarak uygun görülmüştür.

		İMZA
ez Danışmanı	: Yrd.Doç.Dr.Levent KABASAKAL	
niversitesi	: Marmara	.....
ye	: Prof.Dr.Gül DÜLGER	
niversitesi	: Marmara	.....
ye	: Prof.Dr.Meral KEYER UYSAL	
niversitesi	: Marmara	.....
ye	: Prof.Dr.Gül BAKTIR Y. Sera Sezen	
niversitesi	: İstanbul	..... Sera Sezen
ye	: Doç.Dr.Feyza KARTAL	
niversitesi	: Marmara	..... F. Kartal

ONAY

Yukarıdaki jüri kararı Enstitü Yönetim Kurulu'nun 8 /.8. / 2001 tarih ve 11 ayılı kararıyla onaylanmıştır.

Prof.Dr.Sevim ROLLAS
Müdür

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ