

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

**( YÜKSEK LİSANS TEZİ )**

**ORFENADRİN'İN SIÇANLARDA MORFİNİN  
ÖDÜLLENDİRİCİ ÖZELLİĞİNE VE MORFİNE  
BAĞIMLILIK GELİŞMESİNE ETKİLERİ**

**ÇAĞLA KARAKULAK**

**DANIŞMAN  
PROF. DR. SİBEL ÖZYAZGAN**

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

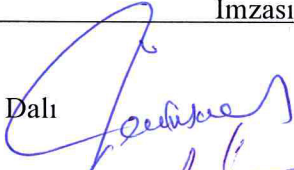
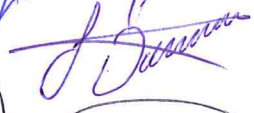
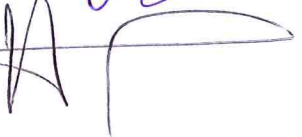
**İSTANBUL-2014**

## TEZ ONAYI

İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı Lisansüstü Programında Çağla Karakulak tarafından hazırlanan Orfenadrin'in Sıçanlarda Morfinin Ödüllendirici Özelliğine ve Morfine Bağımlılık Gelişmesine Etkileri başlıklı Yüksek Lisans tezi, yapılan tez sınavında Jürimiz tarafından başarılı bulunarak kabul edilmiştir.

07 / 01 / 2014

### Tez Sınav Jürisi

<u>Ünvanı Adı Soyadı (Üniversitesi, Fakültesi, Anabilim Dalı)</u>	<u>İmzası</u>
1.Prof. Dr. A. Gökhan Akkan İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fak. Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı	
2.Prof. Dr. Sibel Özyazgan (Danışman) İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fak. Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı	
3.Prof. Dr. Hafize Uzun İ.Ü.Cerrahpaşa Tıp Fak. Biyokimya Anabilim Dalı	
4.	
5.	

**BEYAN**

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

Çağla KARAKULAK

imza



## İTHAF

*Bu tez çalışmamı çok değerli aileme ithaf ediyorum.*

## TEŞEKKÜR

*Tez çalışmam ve yüksek lisans eğitimim süresince bilgi ve tecrübeleriyle beni yönlendiren, vakit ayıran, her zaman desteğini hissettiğim değerli danışman hocam Prof. Dr. Sibel Özyazgan'a,*

*Çalışmalarım süresince bilgi, deneyim ve yardımlarını esirgemeyen, verimli bir çalışma ortamı sağlayan Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. A. Gökhan Akkan'a,*

*Yüksek lisans eğitimim boyunca engin bilgilerinden yararlandığım çok değerli hocalarım Prof. Dr. Zeliha Yazıcı'ya, Prof. Dr. Aydın Barlas'a, Prof. Dr. Öner Süzer'e, Prof. Dr. Okan Yıllar'a, Prof. Dr. Cihat Küçük Hüseyin'e,*

*Tez çalışmalarım da bana yardımcı olan Uzm. Ecz. Oruç Allahverdiyev'e, laboratuvar çalışmalarım boyunca desteğini esirgemeyen Uzm. Ecz. Andleeb Shahzadi'ye, bilgilerinden faydalandığım, çalışmam boyunca bana yardımcı olan Uzm. Dr. Kerim Karaoğlu'na, Uzm. Dr. Ali Boray Başçı'ya, Uzm. Dr. Enes Karabulut'a, Uzm. Ecz. Hande Erdal'a, Uzm. Moleküler Biyolog Burak Önal'a, birlikte eğitim görme fırsatı bulduğum değerli arkadaşlarım Vet. Hek. Tuğçe Uskur'a, Vet. Hek. Ceren Eyileten'e ve tüm bölüm arkadaşlarıma,*

*Başta bölüm sekreterimiz Esmâ Karaarslan, laborant Necmi Türker olmak üzere tüm Farmakoloji personeline,*

*Sevgi ve destekleriyle her zaman yanımda olan çok kıymetli aileme sonsuz teşekkürü borç bilirim.*

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No:30067

## İÇİNDEKİLER

BEYAN.....	İİ
İTHAF.....	İİİ
TEŞEKKÜR.....	İV
İÇİNDEKİLER.....	V
TABLOLAR LİSTESİ.....	Vİİ
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	Vİİİ
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ.....	İX
ÖZET.....	X
ABSTRACT.....	Xİ
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	2
2.1. Madde Bağımlılığı.....	2
2.1.1. Opioid Bağımlılığı.....	3
2.2. Beyin Ödüllandirme Mekanizması.....	4
2.3. Morfin.....	6
2.4. Santral Etkili Antikolinerjiklerin Kötüye Kullanımı.....	8
2.4.1. Orfenadrin.....	9
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	11
3.1. Deney Hayvanları.....	11
3.2. Koşullanmış Yer Tercihii.....	11
3.2.1. Deney Düzeneği.....	13
3.2.2. Hayvan Seçimi ve Gruplama.....	14
3.2.3. İlaçlar ve Uygulanma Şekilleri.....	14
3.2.4. Çalışma Protokolü.....	14
3.3. Lokomotor Aktivite.....	16
3.3.1. Çalışma Protokolü.....	18
3.4. İstatistiksel Değerlendirme.....	18
4. BULGULAR.....	19
4.1. Deney 1: Morfin ve Orfenadrin'in Koşullanmış Yer Tercihine Etkileri.....	19
4.2. Deney:2 Morfin ve Orfenadrin'in Lokomotor Aktiviteye Etkileri.....	24

5. TARTIŞMA.....	26
6. KAYNAKLAR .....	31
ETİK KURUL KARARI.....	38
ÖZGEÇMİŞ.....	39

**TABLolar LİSTESİ**

Tablo 1: Deney grupları enjeksiyon protokolü .....	16
Tablo 2: Yer tercihi testinde sıçanların tüm grupların beyaz bölmede geçirdikleri süre	23
Tablo 3: Aktivite cihazında sıçanların 5 dakika durması ile ölçülen çeşitli aktivite değerlerinin karşılaştırılması.....	25



**ŞEKİLLER LİSTESİ**

Şekil 1: Mezolimbik dopamin yolağı: ilaçların ödüllendirici etkisi için son bir genel substrat.....	5
Şekil 2: Morfinin moleküler yapısı.....	6
Şekil 3: Orfenadrinin moleküler yapısı.....	9
Şekil 4: Koşullandırma kutusu.....	13
Şekil 5: Lokomotor Aktivite Ölçüm Cihazı.....	17
Şekil 6: Ön testte sıçanların siyah ve beyaz bölmelerde geçirdikleri süre.....	20
Şekil 7: Yer tercihi testinde Kontrol ve Morfin 10 mg/kg grubundaki sıçanların siyah ve beyaz bölmelerde geçirdikleri süre.....	21
Şekil 8: Yer tercihi testinde Kontrol, Orfenadrin 20 mg/kg ve Orfenadrin 30 mg/kg grubundaki sıçanların siyah ve beyaz bölmelerde geçirdikleri süre.....	22
Şekil 9: Yer tercihi testinde sıçanların beyaz bölmede geçirdikleri süre.....	23
Şekil 10: Sıçanlarda 5 dakikada ölçülen aktivite toplamı değerlendirilmesi.....	24

**SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ**

Ach	: Asetilkolin
CPP	: Conditioned Place Preference
DA	: Dopamin
DAT	: Dopamin Transporter
KYT	: Koşullanmış Yer Tercihi
Nac	: Nukleus Akumbens
NMDA-R	: N-metil-D-aspartat Reseptörü
SF	: Serum Fizyolojik
SSS	: Santral Sinir Sistemi

## ÖZET

Karakulak, Ç. (2014). Orfenadrin'in Sıçanlarda Morfinin Ödüllendirici Özelliğine ve Morfine Bağımlılık Gelişmesine Etkileri. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Farmakoloji ve Klinik Farmakoloji Anabilim Dalı. Yüksek Lisans Tezi. İstanbul.

**Giriş ve amaç:** Antikolinerjik ilaçların medikal kullanımlarının yanı sıra giderek artan kötüye kullanım ve bağımlılık potansiyelleri son zamanlarda göze çarpan bir durumdur. Bu çalışmada, antikolinerjik orfenadrinin morfin bağımlılığı üzerinde herhangi bir etkisinin olup olmadığı ve suistimale yatkın bir ilaç olup olmadığının ilk kez bir hayvan çalışmasında araştırılması amaçlanmıştır.

**Gereç ve Yöntem:** Çalışmamızda pekiştirici ve ödüllendirici özelliğin değerlendirilmesi, koşullandırılmış yer tercihi (CPP) yöntemi kullanılarak yapıldı. Deneyde ağırlıkları 250-300g arasında değişen erkek Wistar Albino sıçanlar kullanıldı. 1.Grup Kontrol (serum fizyolojik, SF), 2.Grup Morfin (,10 mg/kg), 3.Grup 20 mg/kg orfenadrin, 4.Grup 30 mg/kg orfenadrin, 5. Grup 20 mg/kg orfenadrin + 10 mg/kg morfin, 6.Grup 30 mg/kg orfenadrin + 10 mg/kg morfin olmak üzere 6 grup oluşturuldu. Deney süresince öntestten sonra 4 gün serum fizyolojik, 4 gün de grupların kendi ilaç enjeksiyonları i.p. olarak uygulandı, koşullama sonrası testte ödüllendirici özellik değerlendirildi. Koşullandırılmış yer tercihi deneylerinden sonra lokomotor aktivite ölçümleri yapıldı. İstatistiksel değerlendirme tek yönlü varyans analizi (One way ANOVA), ardından Newman-Keuls testi ile yapıldı.

**Bulgular:**Kontrol grubuna göre morfin güçlü bir yer tercihi oluşturarak ödüllendirici etkisini gösterdi (SF:SF 95,10±33,99; Morfin-SF: 592,7±60,06;  $p<0,001$ ). Orfenadrin ise uygulanan her iki dozunda da (20mg/kg ve 30mg/kg) yer tercihi oluşturmadı. Morfin grubuna göre 30 mg/kg orfenadrin + morfin grubu yer tercihinde değişiklik oluşturmadı. 20 mg/kg orfenadrin + morfin grubunda ise, morfinin oluşturduğu yer tercihinin anlamlı bir şekilde düşürdü (Morfin+Orfenadrin 20: 289,5±74,84;  $p<0,01$ ). Orfenadrin'in ve morfinin lokomotor aktivite üzerine bir etkisi görülmedi.

**Sonuçlar ve tartışma:** Elde edilen verilerde, orfenadrinin ödüllendirici etkisinin bulunmadığı, morfin ile birlikte kullanıldığında; 20mg/kg olan dozun morfin ödüllendirici etkisini azalttığı, 30mg/kg olan dozun morfin bağımlılığı üzerinde etkili olmadığı ve pekiştirici özelliğinin bulunmadığı gözlenmiştir. Orfenadrinin düşük dozundaki bu etkiyi NMDA reseptör antagonisti özelliği ile gösterdiği düşünülmektedir. Orfenadrinin ödüllendirici özelliği ya da kötüye kullanım potansiyelinin başka yöntemlerle de araştırılması gerektiği düşünülmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** orfenadrin, morfin, cpp

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 30067

## ABSTRACT

Karakulak C. (2014). The Effect of Orphenadrine on Rewarding effect of Morphine and Dependence. Istanbul University, Institute of Health Science, Cerrahpasa Medical Faculty, Department of Pharmacology and Clinical Pharmacology. Thesis of Master of Science. Istanbul.

**Objective:** Anticholinergic drugs are potentially used in clinical practice, but from last few years they are subjected to drug abuse and dependence. The present experiment was designed to study the Effect of Orphenadrine on Rewarding effect of Morphine and Dependence.

**Materials & Methods:** Male Wister Albino rats were used in the experiment to study the reinforcement and rewarding effects by conditioned place preference (cpp) test. The experiment was divided into six groups as 1. Control (Serum Physiological, SF), 2. Morphine (10mg/kg), 3. 20mg/kg Orphenadrine, 4. 30mg/kg Orphenadrine, 5. 20mg/kg orphenadrine + 10mg/kg Morphine, 6. 30mg/kg orphenadrine + 10 mg/kg morphine. Following pretest, the rats were given multiple intraperitoneal injections (i.p) of saline solution and drugs on alternative days. Locomotor activity was determined soon after conditioned place preference test. Statistical analysis was done by using one way analysis of variance (one way ANOVA) followed by Newman-Keuls.

**Results:** Morphine significantly enhanced the preference scores in the drug paried side (SF-SF: 95, 10±33, 99; Morphine-SF: 592, 7±60, 06;  $p<0,001$ ) while, both the doses of orphenadrine (20mg/kg ve 30mg/kg) did not exhibit any preference than that of control. Orphenadrine 30 mg/kg + morphin showed no preference in rats whereas orphenadrine 20 mg/kg + morphine group significantly decreased the CPP when compared to morphine group (Morphine+Orphenadrine 20: 289,5±74,84;  $p<0,01$ ). Locomotor activity elicited non significant differences in orphenadrine and morphine group.

**Conclusions:** Orphenadrine alone did not show any reward effects, combined used of Orphenadrine 20 mg/kg + morphine reduced the preference, while Orphenadrine 30 mg/kg + morphine did not exhibit acquisition of CPP in rats. The acquisition of CPP is thought to be due to NMDA receptor antagonistic effects of orphenadrine at low dose.

Key Words: orphenadrine, morphine, cpp

The present work was supported by the Research Fund of Istanbul University. Project No. 30067

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Madde bağımlılığı, ilaç niteliğine sahip bir maddenin santral sinir sistemini etkilemesinden kaynaklanan, maddenin keyif verici etkilerini duyumsamak veya yokluğundan kaynaklanan huzursuzluktan sakınmak için, devamlı veya periyodik olarak madde alma arzusu ve bazı davranış bozukluklarıyla karakterize bir beyin hastalığı olarak tanımlanan tıbbi ve sosyal bir sorundur. Santral sinir sistemini baskılayan veya uyaran bazı ilaçlar bağımlılık oluşturdukları için kötüye kullanılmaktadır. Parkinson tedavisinde ve antipsikotik ilaçlara bağlı ekstrapiramidal yan etkilerin ortadan kaldırılmasında kullanılan orfenadrin, biperiden, triheksifenidil gibi antikolinergik ilaçların kötüye kullanıldıkları uzun zamandır bilinmektedir. Antikolinergik ilaçların medikal kullanımlarının yanı sıra giderek artan kötüye kullanım ve bağımlılık potansiyelleri son zamanlarda önemli bir sorun oluşturmaktadır (Pullen ve ark. 1984; Gjerden ve ark. 2008; Gjerden ve ark. 2009; Guloksuz ve ark. 2009). Antikolinergik ilaçlar öforizan etkileri nedeniyle kötüye kullanılmaktadır. Bu etkiler kullanan kişilerde çok konuşma, özgüvende artış, toplum içinde rahat olma şeklinde tanımlanabilir. Diğer antikolinergik ilaçlardan (Shimosato ve ark. 2003; Tanda ve ark. 2007) farklı olarak orfenadrinin kötüye kullanılmaya yatkınlığına ilişkin hayvan verileri bulunmamaktadır. Ancak, orfenadrin tedavide yaygın olarak kullanıldığından, amaç dışı kullanıma yol açacak farmakolojik özelliklerinin deneysel olarak belirlenmesi önem taşımaktadır. Ayrıca orfenadrinin N-Metil\_D-aspartat (NMDA) reseptör antagonisti etkisi de bulunmaktadır. NMDA reseptör antagonisti özellik gösteren maddeler morfin bağımlılığını azaltmaktadır (Allahverdiyev ve ark. 2011).

Son yıllarda deney hayvanlarında pekiştirici ve ödüllendirici özelliğın değerlendirilmesinde , kolay uygulanması ve güvenilirliğı nedeniyle koşullandırılmış yer tercihi sık kullanılmaktadır. Bu test ile morfin, kokain, eroin, amfetamin ve alkol gibi kötüye kullanılan pek çok ilaç ve maddenin ödüllendirici etkileri gösterilmiştir (Porsolt ve ark. 2002; Ribeiro ve ark. 2004).

Bu projede orfenadrinin, morfin bağımlılığında pekiştirici özelliğının bulunup bulunmadığının ve suistimale yatkın bir ilaç olup olmadığının ilk kez bir hayvan çalışmasında araştırılması amaçlanmıştır.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Madde Bağımlılığı

Madde bağımlılığı, ilaç niteliğine sahip bir maddenin santral sinir sistemini etkilemesinden kaynaklanan, maddenin keyif verici etkilerini duyumsamak veya yokluğundan kaynaklanan huzursuzluktan sakınmak için, devamlı veya periyodik olarak madde alma arzusu ve bazı davranış bozukluklarıyla karakterize bir beyin hastalığı olarak tanımlanabilir tıbbi ve sosyal bir sorundur. Madde merkezli olarak oluşan bağımlılık kişilerin sosyal çevrelerinden uzaklaşmalarına, işlerini kaybetmelerine, çeşitli finansal sorunlar yaşamalarına sebep olur. Bazen kişinin mutluluğu ve yaşamı için tercihler yapmada zorlanması olarak da gözlemlenebilir. Çoğu bağımlı, durumlarının farkında olup tedaviler için araştırmalarda bulunsa da bu durumu aşmakta başarılı olamazlar.

Tüm sosyal ve çevresel koşulların kontrol altında olduğu laboratuvar çalışmalarına bakıldığında, bağımlılık yapıcı maddelere erişimi serbest olan normal hayvanların bu maddeleri kendilerine uygulamak ile uğraştıkları görülmüştür. Bu davranışlar, insan ve hayvan beynindeki nörobiyolojik substratların bağımlılık yapıcı maddeler tarafından kolayca zarar görerek değiştirilebileceğini gösterir. Bu şekilde etki gösteren maddeler, ilaç alım davranışının istemsiz bir şekilde alınmasının giderek artmasına sebep olurlar. Hayvanlar ve insanlarda da bağımlılık riski kabaca %50 genetik faktörlerden kaynaklı olduğu söylenmektedir. Fakat bu duruma sebep olan spesifik genler hala bilinmemektedir. Bağımlılığa sebep olan biyolojik etkenleri ve kişisel hassasiyeti anlamak, etkili bir tedavi geliştirilmesi için çok yardımcı olacaktır. Bunun için sağlıklı beyinde ödüllendirme mekanizmalarının belirlenmesi, nörokimyasal ve anatomik temellerin fonksiyonların belirlenmesi önemlidir. Bunun yanında bağımlı beyinlerde, bağımlı olmayanlara göre kullanılan maddeler tarafından oluşturulmuş değişiklikler belirlenmelidir (Golan ve ark. 2007).

Bağımlılık santral sinir sisteminde (SSS) nöronlarda, duruma uyumla gelişen değişikliklere bağlı olarak ortaya çıkar (Koob ve Bloom 1988). Oluşan değişiklikler maddelerin etkiledikleri nöronlarda ve nöronların etkilerinin kontrol edildiği sistemlerde görülmektedir. Değişimlerin, SSS'de var olan dengenin korunmasına yönelik düzenlenmeler olduğu düşünülmekte fakat kesin bir mekanizma bulunmamaktadır. Opioid bağımlılığı için pek çok varsayım gösterilmektedir (Koob ve Bloom 1988; Wang ve ark. 1998).

Bağımlılık gelişimi ile çoğu zaman tolerans da görülmektedir. *Tolerans*, madde kullanımına ile nöron düzeyinde gelişen uyumsal değişikliklere bağlı olarak, beklenen etkinin oluşması için daha yüksek miktarların kullanılmasının gerektiği durumdur. Bağımlılık ve toleransın aynı mekanizmalar ile ortaya çıktığı, nöroadaptif değişmelerin kısmen veya tamamen tolerans oluşmasına da katkıda bulunabildikleri düşünülmektedir (Ueda ve ark. 2003).

Bağımlılık fiziksel ve psişik olmak üzere ortaya çıkmaktadır. Psişik bağımlılık, maddenin ruhsal durumda yarattığı hoş giden etki ile gelişir. Bu etki pozitif pekiştirici yöndedir, maddeyi almaya devam etme ile kendisini göstermektedir. Fiziksel bağımlılıkta ise, tekrarlayan uygulama sonucu fizyolojik durumun değişmesi ile ortaya çıkar. Bırakıldığında yoksunluk belirtileri gözleneceğinden maddenin sürekli kullanılması gerekli hale gelir (Rinaldi ve ark. 1988; Kayaalp 2005). Yoksunluk semptomları tipik olarak kaygı, huzursuzluk kullanılan maddeye olan istek olarak tanımlanır. Fiziksel bağımlılığın derecesi bu şekilde, ortaya çıkan yoksunluk belirtilerinin şiddeti ile anlaşılabilir.

### **2.1.1. Opioid Bağımlılığı**

Opioidlerin oluşturduğu öfori, sakinlik ve ruh hali değişikliğinin mekanizmaları tam olarak bilinmemektedir. Davranış ve farmakolojik verilere bakıldığında dopaminerjik yollar üzerinde ilaçların oluşturduğu tekrar deneme isteğinden özellikle Nac'ın sorumlu olabileceğini işaret etmektedirler. Opioidle uyarılan tekrar deneme isteğini yönlendiren opioidler ve dopamin arasında etkileşimini gösteren kuvvetli veriler bulunmaktadır (Kayaalp 2005).

Opioid tipi bağımlılığın özelliklerine bakıldığında, güçlü psişik bağımlılık oluşumu gerçekleşir. Bırakıldığında yeniden başlama oranı yüksektir. Fiziksel bağımlılık oluşumu erken başlar ve tolerans gelişimi gerçekleşir. Kullanım süresine bağlı olarak fiziksel bağımlılığın ve toleransın derecesi artar.

Farklı opioid ilaçların bağımlılık yapma potansiyelleri değişiklik göstermektedir. Eroin, güçlü öforik etki gösterir ve en yüksek bağımlılık yapma potansiyeli olan maddedir. İlaç olarak kullanımı çoğu ülkede yasaklanmıştır. Buna karşılık, benzomorfan türevi sentetik opioidler ile öksürük ilacı olarak kullanılan kodein (metilmorfin) bağımlılık potansiyeli daha düşük olan ilaçlardır (Kayaalp 2005).

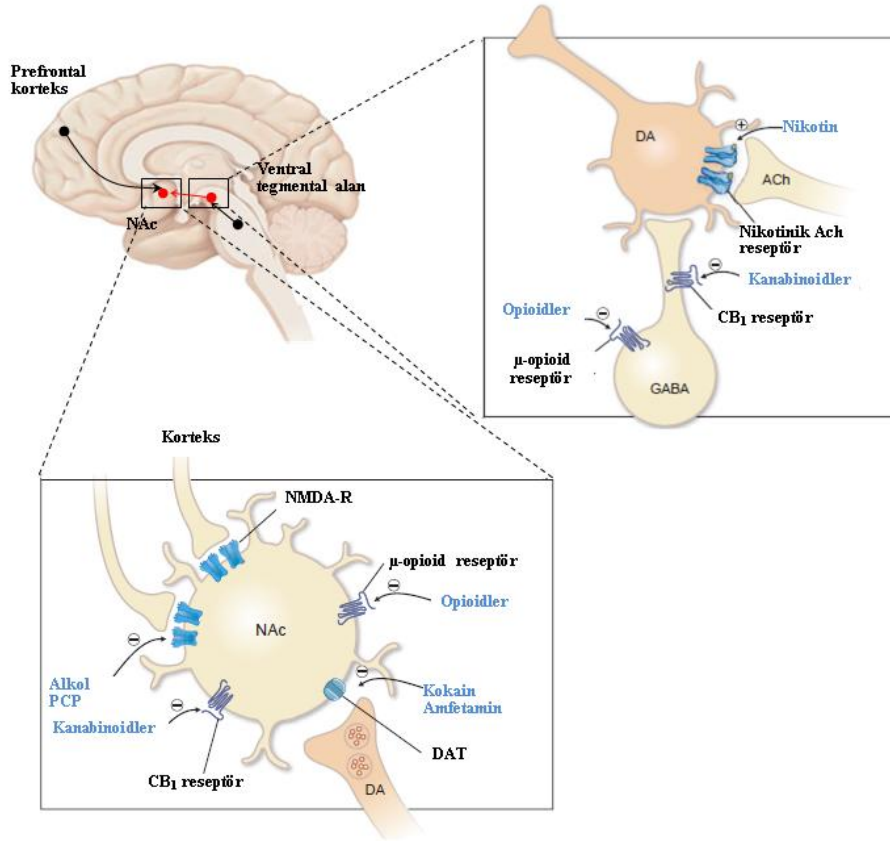
## 2.2. Beyin Ödüllendirme Mekanizması

Bağımlılık yapan maddeler hem ödüllendirici hem de pekiştirici etkiye sahiptir. Ödül, beyinin doğal olarak olumlu veya erişilecek bir şey olarak algıladığı uyarandır. Pekiştirici uyarın, eşlendiği davranışların tekrarlanma olasılığını artırır. Tüm pekiştiriciler ödüllendirici değildir. Örneğin; negatif ya da cezalandırıcı uyarın, kaçınma davranışını pekiştirebilir.

İlk başta drog kullanımı için maddeye bağlı ortaya çıkan hoş giden durumlar, önemli bir motive edici etkindir. Bu durumların yanı sıra kaçınılmaz olarak beyin ödüllendirme mekanizmasında da gelecekteki ilaç kullanımına teşvik edici yönde değişimler gerçekleşmektedir. Pozitif pekiştirmenin farklı bir formu da hoş gitmeyen semptomların ilaç kullanımıyla ortadan kalkması durumudur. Drog kullanılırken yoksunluğun giderilmesi durumu da buna örnektir. Nötr uyarınların, kötüye kullanılan maddelerin hoş giden etkisiyle ilişkilendirildiği koşullu pekiştirme de pozitif pekiştirmenin farklı bir çeşididir. Tüm bu mekanizmalar, tekrarlayan drog kullanımıyla ilgili bilgiler için katkı sağlamaktadır (Golan ve ark. 2007).

Kötüye kullanılan maddelerin pekiştirici etkisi hayvanlarda gösterilebilir. Kemirgenler ya da insan olmayan primatlarda bakıldığında, burunlarını aparata sokarak ya da butona basarak kendilerine uyguladıkları gözlenmiştir. Kendine verme paradigmasında, bu işlemin hayvan tarafından yapılma sıklığı, ilaçların pekiştirmedeki etkinliğini gösterir. İlaç bağımlı davranışı gösteren bu durum, maddenin insanda yarattığı etki ile de korelasyon gösterir. Örneğin kokain, intravenöz olarak uygulandığında yüksek şekilde pekiştirici özellik gösterir. Kendine verme testi uygulanan laboratuvar hayvanlarının bazılarında kokaini almak için; yemek, su gibi yaşamsal ihtiyaçlarından ölüm noktasına kadar vazgeçebilecekleri görülmüştür. Bu şekilde gözlemlenen durumlar, kokainin insanlarda da ne kadar güçlü bir bağımlılık oluşturduğunu açıklamaktadır. Marihuana gibi insanlarda daha az bağımlılık etkisi olan maddeler, hayvanlarda da kendini verme testlerinde çok uygulanmadığı görülmüştür. İnsanlarda bağımlılık yapmayan droglar, hayvanlarda da pekiştirici özellik ya da kendine uygulama şeklinde gözlenmez. (Hyman ve ark. 2006).

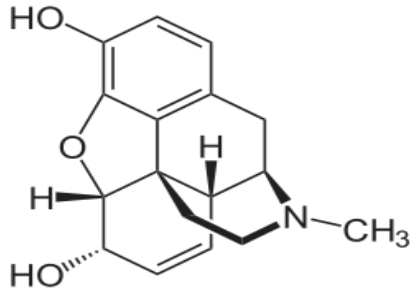




**Şekil 1: Mezolimbik dopamin yolağı: ilaçların ödüllendirici etkisi için son bir genel substrat (Golan ve ark. 2007 p.292).**

Kötüye kullanılan bütün maddeler mezolimbik dopamin yolağını aktive ederler. Bu durum, ventral tegmental alanda (VTA) nukleus akumbensten (NAc) gelen dopamin nöronlarını da içermektedir. Farklı internöronlar, mezolimbik nörotransmisyonu modüle etmek için VTA ve NAc nöronları ile etkileşim içerisindedir. Nikotin, eksitator nikotinik kolinerjik reseptörler ile etkileşim içerisindedir. Bu reseptörler, VTA dopamin nöron hücre gövdesinde yer alır ve NAc'te dopamin salınımını artırır. Kokain, genellikle dopamin transporter (DAT) aracılığıyla sinir bağlantı ucunda dopaminin geri alınımını inhibe eder. Böylece dopaminin sinaptik seviye artışı NAc'ı etkilemektedir. Opioidler ve kannabinoidler, dopamin nöron aktivitesi disinhibisyonu ve dopaminerjik nörotransmisyonun artışı sonucu VTA'da lokal inhibitör internöronlardan GABA salınımını azaltırlar. Ayrıca NAc'ta da rol alırlar. Alkol ve diğer SSS depresanları, NAc'taki nörotransmisyonu azaltmak için NMDA reseptörleri üzerinde rol oynarlar.

### 2.3. Morfin



Morfin, morfinan halka sistemine sahiptir. Yapısında bir fenol bir de alkol hidroksili bulunmaktadır. Bir veya üç mol su ile beraber kristallenir. 110 °C'de kristal suyunu kaybeder ve 230 °C'de erir. Renksiz kristal haldedir.

**Şekil 2: Morfinin moleküler yapısı**

**Opioid** ; opiyum (afyon)'dan gelir. Morfin (afyon) veya morfin benzeri aktivite gösteren doğal ve sentetik maddelere verilen bir isimdir. Bu maddeler haşhaş (Papaverin somniferum) bitkisinden ekstre edilen morfin ve kodeinden oluşan doğal maddelerle bu bitkinin tohumları kullanılarak yarı sentetik olarak yapılan maddelerden oluşmaktadır. Opiyum içinde en yüksek oranda bulunan alkaloiddir. Türkiye 1972 yılına kadar dünyanın belli başlı opiyum üreticisi ülkelerinden biriydi. O tarihten sonra haşhaş (Papaver somniferum) bitkisinin kapsülünün çizilmesi ve bu şekilde opiyum elde edilmesi yasaklanmıştır (Kayaalp 2005).

Opioid analjeziklerin çoğu subkutan, intramusküler ve oral yoldan uygulandıklarında iyi absorbe olurlar. Fakat İlk geçiş metabolizması etkisinden dolayı morfinin de dâhil olduğu pek çok opioid için parenteral uygulama ile elde edilen etki oral yol ile oluşan etkiden daha fazladır. Örneğin; oral olarak kullanılan morfin preparatlarının biyoyararlanımı sadece %25'dir. İlk geçiş metabolizması ve klerensdeki farklılıklar göz önüne alınarak ayarlamalar yapıldığında oral yolla morfinle yeterli oranda ağrı tedavisi sağlanır (Neumann ve ark., 1982).

Karaciğerde metabolize olarak, metabolitleri idrar ve safra yoluyla atılır. Uygulama sonrası yarılanma ömrü yaklaşık 2 saattir.

Terapotik dozlardan sonra plazmadaki morfin yaklaşık olarak üçte bir oranında proteine bağlanır. Morfin dokularda sürekli kalmaz, son dozun alımından 24 saat sonra dokularda bulunan konsantrasyonları azalır. Metabolizmasında ana yolak glukuronik aside metabolize olmasıdır. Oluşan iki ana metabolit morfin-3-glukuronid ve morfin-6-

glukuronidtir. Çok az oranda morfin değişmeden atılır. Glomerüler filtrasyonla asıl olarak morfin-3glukuronid metaboliti halinde atılır; toplam atılımın yaklaşık %90'ı ilk gündedir. Morfin ve metabolitleri enterohepatik dolaşıma katıldığından, günler sonra feçes ve idrarda düşük miktarlarda morfinin tespit edilebilir.

Morfin hidroklorid veya sülfat tuzu şeklinde kullanılan doğal kaynaklı bir ilaçtır. İlk kez 1805 yılında Alman eczacı Sertturner tarafından afyondan izole edilmiştir. Opioid reseptörlerin  $\mu$ ,  $\chi$  ve  $\delta$  (mü, delta ve kapa) alt tiplerinde agonist etki gösterir. Farmakolojik etkilerine bakıldığında terapötik olarak en önemli etkisi analjezidir ve bu etkisini çok güçlü bir şekilde gösterir. Analjezik etkiyi ağrı yollarını hem spinal hem de supraspinal düzeyde etkileyerek oluşturur. Spinal düzeyde omuriliğin arka boynuzunda birinci ağrı nöronu ile ikinci nöron arasındaki sinapsta presinaptik mü ve kapa reseptörlerini uyararak gösterir. Ağrının algılanmasını her zaman engellemediği halde ağrıya karşı yanıtı azaltır (Goodman ve Gilman 2012).

Morfinin santral sinir sistemi (SSS) etkilerinin yanında gastrointestinal etkiler gibi periferik etkileri de vardır. Bu etkiler  $\mu$  ve  $\chi$  reseptörler aracılığıyla gerçekleşir. Ağız kuruluğuna sebep olur. Mide motilitesini azaltarak boşalmasını geciktirir. İnce bağırsakta itici peristaltik hareketleri azaltır ve konstipasyon yapar. Antidiüretik hormon salgısı arttığından, atılan idrar hacminde azalma olur.

Sedasyon etkisi yapar. Hareketlerde azalma, çevreye isteksizlik gerçekleşir. Öksürük merkezini deprese ederek antitusif etki gösterir. En önemli yan etkisi ise solunumu deprese etmesidir. Solunum hız ve derinliğini azaltır. Hipotalamusa olan etkisiyle hipotermi yapmaktadır. Vazodilatasyon yapmasına bağlı olarak bradikardi gelişir ve bunun yanında hipotansiyon görülür. Hipertermi ve miyozise neden olur. Dopaminerjik inhibisyonu düşürür.

Morfin, histamin salınımını artırır. Bronkokonstriksiyona neden olur. Bu yüzden bronşiyal astmalı hastalarda astma krizine neden olabilir. Histamin açığa çıkışıyla ciltte kızarıklı kaşıntı görülebilir.

Devamlı kullanım sonrası tolerans gelişimi ve fiziksel bağımlılık gözlenir. Bağımlılığın olduğu kişilerde bırakılması ile yoksunluk sendromuna neden olur. Bağımlılık derecesine göre semptomlar ve bunların şiddeti değişebilse de gözyaşı, burun akıntısı, terleme, esneme, huzursuzluk, midriazis, kan basıncında artma, taşikardi, kaz derisi

görünümü, karın krampları görülebilir (Nestler ve ark. 2008).

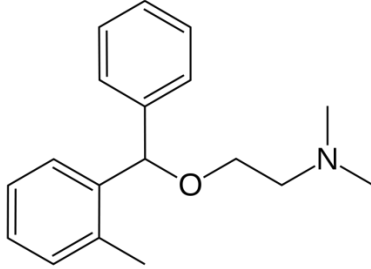
#### **2.4. Santral Etkili Antikolinergiklerin Kötüye Kullanımı**

Santral sinir sisteminde etkili antikolinergik ilaçların kötüye kullanım potansiyeli olduğu bilinmektedir. Şizofrenili hastalarda antipsikotik tedaviye bağlı ortaya çıkan akut distonik reaksiyonların giderilmesi amaçlı kullanılır. Özellikle şizofrenili hastalarda (Dose ve Tempel 2000) ya da kullanımını gerektirecek herhangi bir durumu bulunmayan hastalarda kötüye kullanılmaktadır. Şizofrenili hastalar yanı sıra morfin ve barbitürat bağımlıları gibi hastaların psikotropik etkileri nedeni ile arada bir veya düzenli olarak antikolinergik kullandıkları da bildirilmiştir (Schulte 1988).

İlaca kolay ulaşım ve ucuz olması sebebiyle kötüye kullanımın arttığı düşünülmektedir (Christensen 2003). Kişilerde özgüvende artış, toplum içinde rahat olma, depresyondan uzaklaşma, keyiflenme gibi etkiler göstermektedir. Toksik dozlara ulaştığında ise halüsinasyon, belleğin bozulması ya da psikoz benzeri durumlara yol açarlar.

Antikolinergik ilaçlar arasında kötüye kullanımı en çok bildirilen ilaçlar triheksifenidil, orfenadrin, biperiden, prosiklidin ve benztropindir. (Smith 1980; Grace 1997).

### 2.4.1. Orfenadrin



Dimetiletanol ve 2-metilbenzhidril reaksiyonu sonucu oluşur. Formülü C<sub>18</sub>H<sub>23</sub>NO. Serbest baz olarak moleküler ağırlığı 269'dir.

**Şekil 3: Orfenadrinin moleküler yapısı**

Orfenadrin, etanolamin antihistamin sınıfı bir antikolinerjiktir. Orfenadrin, klorfenoksamin, difenhidramin gibi ilaçlar antihistamin ve antikolinerjik etkiye sahip ilaçlardır. Bu ilaçlar antikolinerjik ilaçlara göre daha düşük antiparkinson özellik gösterirler. Antipsikotik tedaviye ek olarak kullanılır. Diğer antikolinerjikler gibi şizofrenili hastalarda antipsikotik tedavi sebebiyle ortaya çıkan akut distonik reaksiyonlar ve parkinson sendromu gibi istenmeyen etkilerin tedavisinde kullanılır. Görülen bu nörolojik etkiler özellikle D<sub>2</sub> dopamin reseptörlerinde güçlü antagonist etkileri olan eski antipsikotik ilaçlar ile ortaya çıkar. Psikomimetik yan etkileri olmadığından tercih edilmektedir. Fakat antipsikotiklerle birlikte yüksek toksisite olabildiğinden çeşitli sistemik komplikasyonlar ve nöbetlere sebep olduğundan klinik kullanımı kısıtlanmıştır (Redjak ve ark. 2011).

Asetilkolinin muskarinik reseptörlerinde antagonist eylemi ile antikolinerjik etki gösterir. Merkezi sinir sistemine (MSS) etkisiyle ön plandadır. Periferik etkisi zayıftır. Etki mekanizması tam bilinmemektedir. Orfenadrinin terapötik doz aralığında, antihistamin, antiglutamaterjik ve antikolinerjik etkisi bilinmektedir.

Orfenadrin, N-metil-D-aspartat (NMDA) reseptörlerini ve H1 Reseptörlerini bağlanarak inhibe eder. Orfenadrin, non-kompetitif NMDA reseptör antagonisti olduğundan reseptörün fensiklidin tarafına bağlanır (Millar 1977).

Bir çalışmada gösterildiği gibi doz 35mg/kg'ı geçtiğinde nöbet benzeri (titreme, tükürük salgısı, şahlanma, reflekslerin azalması) durumlarla karşılaşmıştır (Czuczwar ve ark. 2009).

Bunların yanında, orfenadrin uygulanması, insan HERG potasyum kanalını inhibe etmektedir. Bu kanalın, felce sebep olması değil ama proaritmik yan etkilerden sorumlu olabileceği söylenmektedir. Alternatif olarak nöbetin yayılması merkezi sinir sisteminde asetilkolin salınımı ve pilokarpin modelinde (epilepsi modeli) kolinerjik reseptör aktivasyonu sonucu olabilir. Kardiyovasküler problemleri olan hastalarda dikkatli kullanılmalıdır.

*Orfenadrin sitrat*, analjezik özellik gösteren, fiziksel terapide kas gevşetici olarak kullanılan bir ilaçtır. Fiziksel terapide, kas incinmelerinde, burkulmalarda acıyı azaltmak, kasılmanın rahatsızlığını gidermek amaçlı kullanılmaktadır.

Güçlü antikolinerjik etkisinden dolayı glukoma, prostatik hipertropi, doudenal tıkanıklık, miyasteni gibi hastalık durumlarında kontrendikedir. Renal veya hepatik bozuklukların olduğu kişilerde kullanımına dikkat edilmelidir.

Orfenadrin, karaciğerde metabolize olur. İdrar ve feçesle atılımı gerçekleşir. Farmakolojik aktif metabolitleri; N-demetil orfenadrin ve N,N-dimetil orfenadrindir. Oral ve parenteral alındığında 2 saat içerisinde kan seviyesi yükselir ve 4-6 saat devam eder. Yarılanma ömrü 14 saattir. Genel yan etkilerine bakıldığında ise; sersemlik, baş dönmesi, kabızlık, ağız kuruluğu, bulantı, taşikardi ve idrar retansiyonu görülebilmektedir.

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3.1. Deneysel Hayvanları

Deneyde 48 adet 240-320 gram ağırlıkları arasında erkek Wistar albino sıçanlar kullanıldı. Sıçanlar İstanbul Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü'nden alınarak düzenli olarak temizliği yapılan kafeslere 4'erli gruplar şeklinde yerleştirildi. Havalandırmaya sahip, 21-23°C sabit sıcaklıktaki, 12 saatlik aydınlık/karanlık döngüsünün sağlandığı ortamda bakılarak; serbest yem yeme, su içme rejiminde (ad libitum) barındırılmıştır.

Sunulan tez çalışmasında kullanılan deney protokolleri İstanbul Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü Deney Hayvanları Etik Kurulu'nca 02/01/2013 tarihli toplantıda 173 no'lu kararla onaylanmıştır.

#### 3.2. Koşullanmış Yer Tercih

Bağımlılığın incelendiği deneysel çalışmalarda farklı deney hayvanı modelleri kullanılmaktadır. Koşullanmış yer tercihi testinde (KYT) kullanılan bu deney modellerinden bir tanesidir. Çeşitli maddelerin kötüye kullanım yatkınlıklarını değerlendirmede, pekiştirici özelliğinin incelenmesinde kullanılan yararlı bir yöntemdir. KYT modelinin kolay uygulanabilirliği, ekonomik olması sebebiyle tercih edilmektedir (Tzchentke, T.M. 1998) Kemirgenlerin doğal ya da madde ilişkili ödüllerin etkilerinin araştırılması amacıyla sıklıkla kullanılmaktadır. Opioidler, amfetamin, nikotin gibi kötüye kullanımı olan birçok madde ile KYT deneylerinde yer tercihi oluştuğu gözlenmiştir (Mucha ve ark.1982)

Klasik koşullama prensibine dayanan bu çalışma metodu, maddelerin bağımlılık yapıcı özellikleri ile ortam arasında kurulan etkileşimi incelemektedir. Ödül ve belirli beyin bölgeleri arasında iş birliği oluşumunu gerektiren bir öğrenme yöntemidir (Kawasaki ve ark 2005). Deneyde *şartsız uyarıcı*; verilen maddenin yarattığı etki, *şartlı uyarıcı*; maddenin uygulanması sonrasında deney hayvanının belirli bir süre bırakıldığı kutudur. Deney hayvanları, koşullama sonrasında koşulsuz uyarıcının ipuçlarına yaklaşır, sakınır veya ilgisiz kalırlar.

KYT testinde düzenekler genelde iki veya üç bölmeden oluşur. İki bölmeli düzeneklerde hayvanlar hacimce birbirine benzer fakat kendi aralarında renk, zemin gibi çeşitli farklar olan iki bölmeden oluşan düzeneğe konurlar (Tzchentke, T.M. 1998; Bardo ve ark. 2000) Tabanları kare veya dikdörtgen şeklinde olun bölmeler, giyotin bir kapı ile ayrılırlar. Test ve alıştırma dönemlerinde açık olan kapı, koşullama döneminde açık tutulur. Üç bölmeli düzeneklerde ise iki bölmeliden farklı olarak ortada ara bir bölme daha bulunmasıdır. Deney kutularının bölmeleri çeşitli faktörler değiştirilerek (farklı duvar renkleri, farklı zeminler, koku veya aydınlatma farklılıkları gibi) madde ile eşleşen bölmenin belirlenmesi amaçlanır. Deneylerde ödüllendirici madde hep aynı bölgede verilerek koşullama sağlanır ve madde ortada yokken de o bölmenin tercih edilip edilmeyeceği değerlendirilir.

Çalışmalarda kullanılan protokol; alıştırma ön test, koşullama, ve koşullama sonrası test şeklindedir. Alıştırmada hayvanların ortama alışması için belirli bir süre kutuda kalmaları sağlanır. Ön test aşamasında, aradaki bölme açık şekilde her iki tarafta da serbestçe gezinir ve bölmelerde geçirdikleri süreler hesaplanır. Koşullamada, sıra ile iki bölme için de kullanılacak madde ya da serum fizyolojik uygulanması gerçekleştirilerek öğrenmenin kazanılması amaçlanır. Her iki bölmede de eşit sürelerde bekletilirler. Kullanılan protokole göre koşullama döneminin sayısı ve süresi değişiklik gösterebilmektedir. Koşullama sonrası testte ise; ön testteki gibi hayvanın her iki bölmeye de erişimi sağlanır. Hayvanın, ödüllendirici uyarana maruz kaldığı bölmede geçirdiği süredeki artış, koşullanmış yer tercihi olarak kabul edilir. Koşullanmış yer sakınması da koşullanmış yer tercihindeki ilkelere dayanmaktadır. Madde ile eşleşmiş bölmede olumsuz birliktelik, bölmenin “uzaklaştırıcı” özellik kazanmasını sağlar.

Deneylerde kullanılan kutuların tasarımlarına göre deney hayvanlarının aynı bölmeyi istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde tercih etmeleri KYT testlerinde yanlı ve yansız olmak üzere iki farklı tasarım kavramını ortaya çıkarmıştır. Yanlı tasarımlı düzeneklerde ilaç uygulamaları tercih edilmeyen tarafta yapılırken (Cunningham ve ark 2003), yansız tasarımlı düzeneklerde ise, her iki bölme de yaklaşık olarak eşit şekilde tercih edildiğinden madde ile eşleşmiş bölme düzenlenmesi rastgele yapılmaktadır (Rezayof ve ark. 2006).



### 3.2.1. Deney Düzeneği

Koşullandırma için kullanılan KYT düzeneği, 60x30x30cm (uzunluk x genişlik x yükseklik) boyutlarında yarısı siyah, diğer yarısı beyaz renkte olan pleksiglastan yapılmış bir kutudur. Kutunun alt kısmı çekmeceli yapılıp, deneyler sırasında temizlik pratikliği sağlanmıştır. İki bölme şeklinde kullanılacağından 30cm'lik iki ayrı alan şeklinde tasarlanmıştır. Yarısının üç duvarı da tamamen beyazken, diğer üç duvar da siyah renktedir. Beyaz renkli kısmın tabanında 4mm çapında delikleri bulunan siyah levha; siyah renkli kısmın tabanında 3mm çapında, 7mm aralıklarla dizilmiş paslanmaz çelik çubuklar bulunmaktadır.

Koşullama kutusunun ortasında giyotin kapı bulunmaktadır. Kapı kaldırıldığında deney hayvanı iki bölmeye de rahatlıkla geçebilmektedir. Düzeneğimizde iki taraf farklı renklerde olduğundan giyotin kapı da ona göre tasarlanıp tamamen kaldırılmamış, test günlerinde çubuklarla 10cm yukarıda tutularak, deney hayvanının iki bölüme de rahat geçebileceği kadar havada kalması sağlanmıştır. Bunun sebebi; koşullandırılırken siyah bölmenin dört duvarı siyah ve beyaz bölümün de dört duvarı beyazken giyotin kapı tamamen kaldırıldığında test gününde karşı duvarların tam ters renkte olmasıdır. Deney hayvanının ortam algısının değişmemesi, tamamen koşullanma anıyla aynı ortamın sağlanması amaçlanmıştır.



**şekil 4: Koşullandırma kutusu**

Deneylerin gerçekleştirildiği sekiz adet birbirinden bağımsız, aynı özellikteki KYT düzeneği, davranış çalışmalarına uygun koşullara sahip odaya yerleştirilmiştir. Oda

sadece KYT deneyi için kullanılmış, dışarıdan ses geçirmeyen, her noktası aynı aydınlatmaya sahip özelliktedir. Odanın beyaz gürültüsü sürekli devam eden havalandırma sistemi ile olmaktadır.

### **3.2.2. Hayvan Seçimi ve Gruplama**

Deneyde her birinde 8 hayvan olacak şekilde 6 adet grup oluşturuldu. Bunlar; kontrol (serum fizyolojik), morfin (10mg/kg), 20mg/kg orfenadrin, 30mg/kg orfenadrin, 20mg/kg orfenadrin + 10mg/kg morfin, 20mg/kg orfenadrin + 10mg/kg morfin gruplarıdır. Alıştırma, öntest ve son olarak yer tercihi testleri sırasında hiçbir hayvana enjeksiyon yapılmazken deneyler sırasında grupların özelliklerine göre, hayvanlara günde iki enjeksiyon yapıldı. Gruplamaya göre, periton içerisine serum fizyolojik ve 15 dakika sonrasında serum fizyolojik, morfin(10mg/kg), 20mg/kg orfenadrin veya 30mg/kg orfenadrin uygulandı. Bazı gruplarda da ilk enjeksiyon 20mg/kg orfenadrin veya 30mg/kg orfenadrin olurken, 15 dakika sonra serum fizyolojik ya da morfin (10mg/kg) enjeksiyonu yapıldı.

### **3.2.3. İlaçlar ve Uygulanma Şekilleri**

Kullanılan ilaçların (morfin ve orfenadrin) her ikisinin de uygun dozları serum fizyolojikte çözülerek çözeltileri hazırlandı. Morfin çözeltisi 1ml/kg uygulanacak şekilde hazırlanarak intraperitoneal (i.p.) enjeksiyon yapıldı. Orfenadrin sitrat (Santa Cruz Biotechnology, Inc.) çözeltileri (20mg/kg ve 30mg/kg) ise, çözülme kolaylığı açısından 2ml/kg olacak şekilde hazırlanarak periton içerisine uygulandı. Çözeltiler, uygulanacağı deney gününde taze olarak hazırlandı.

### **3.2.4. Çalışma Protokolü**

Deneyin çalışma protokolü toplamda 15 gün sürmüştür. Çalışmanın tamamı, günün aydınlık kısmında (9:00 ve 16:00 arası) gerçekleştirilmiştir. Davranış çalışmalarında tercih edilen saatler bunlardır. Çünkü sıçanların aktiviteleri akşam farklılık gösterdiğinden gündüz seansları deneyler için en uygun zaman dilimidir.

Yukarıda belirtildiği gibi deney grupları oluşturularak bir grup aynı zamanda deneye tabi tutuldu. Test aşamalarında sıçanlar, hafif aralık yukarıda bırakılan giyotin kapının altına, tam ortaya gelecek şekilde ve hayvanların başları, CPP deney kutusunun uzun

duvarına bakacak şekilde tutularak hiç bir yönlendirme yapılmadan kutulara yerleştirildi.

CPP kutuları, her hayvan çalışmasından sonra temizlenerek %70'lik alkol ile silindi. Bu şekilde de önceki hayvanın bıraktığı kokulardan etkilenmesi gibi bir durum ortadan kaldırılmış oldu.

Çalışmada kontrol ya da tek bir ilaç uygulanacak sığana da diğerleriyle aynı şekilde iki enjeksiyon yapılması adına ikinci ilacın yerine serum fizyolojik uygulandı. Bu uygulamanın sebebi; her bir hayvanın eşit koşullarda deneye devam etmelerini ve aynı stresi yaşamalarını sağlamaktır.

Çalışma toplamda dört aşamadan oluşmaktadır. Bunlar; alıştırma, öntest (pretest), koşullandırma ve yer tercihi testidir (posttest).

**Alıştırma:** Çalışmanın bu aşaması deney hayvanlarını başlamadan önce ortam şartlarına alıştırma amaçlıdır. Hayvanlar çalışma ortamında bir hafta kaldıktan sonra, deney öncesi CPP kutularına konularak alışmaları sağlanmıştır. Her bir sıçan deney kutusunda 5 dakika kadar bırakılmış ve kutuların temizliği alkolle sağlanmıştır.

**Öntest (Pretest):** Alıştırma aşamasından bir gün sonra yapılmıştır. Sıçanlar CPP kutularına konularak 15 dakika bırakıldı. Bu süre içerisinde yer tercihleri izlenerek kutunun beyaz tarafında geçirdikleri zaman kronometre ile belirlendi.

**Koşullandırma:** Deneyle bu aşaması öntest gününden bir gün sonra başlamıştır. Koşullandırma deneyinin tamamı 10 gün sürdü. Bu dönemin 1. 2. 3. 4. günlerinde ve 2 gün ara verildikten sonra 7. 8. 9. 10. günlerinde toplam 8 kez koşullandırma yapıldı. Bütün gruplara bir gün ilaç, bir gün serum fizyolojik enjeksiyonu (kontrol grubu için her iki gün de serum fizyolojik) yapıldı. Koşullandırma aşamasının 1,3,7 ve 9. Günlerinde siyah bölmede serum fizyolojik uygulanırken; 2,4,8 ve 10. günlerde ise gruplara ait olan maddelerin uygulaması yapıldı. Sıçanlara koşullama sırasında 15 dakika ara ile iki enjeksiyon yapıldı ve ikinci enjeksiyondan sonra koşullanma kutularına yerleştirildiler. Deney hayvanları, kutularda 40 dakika koşullanma için bekletilerek sonrasında kendi yaşam alanlarına konuldular. Siyah bölmede iki enjeksiyon da serum fizyolojik olurken, beyaz bölmede gruplara göre uygulanan farklılık gösterdi. Uygulanan maddelerin planı da aşağıda tablo:1'de gösterilmiştir.

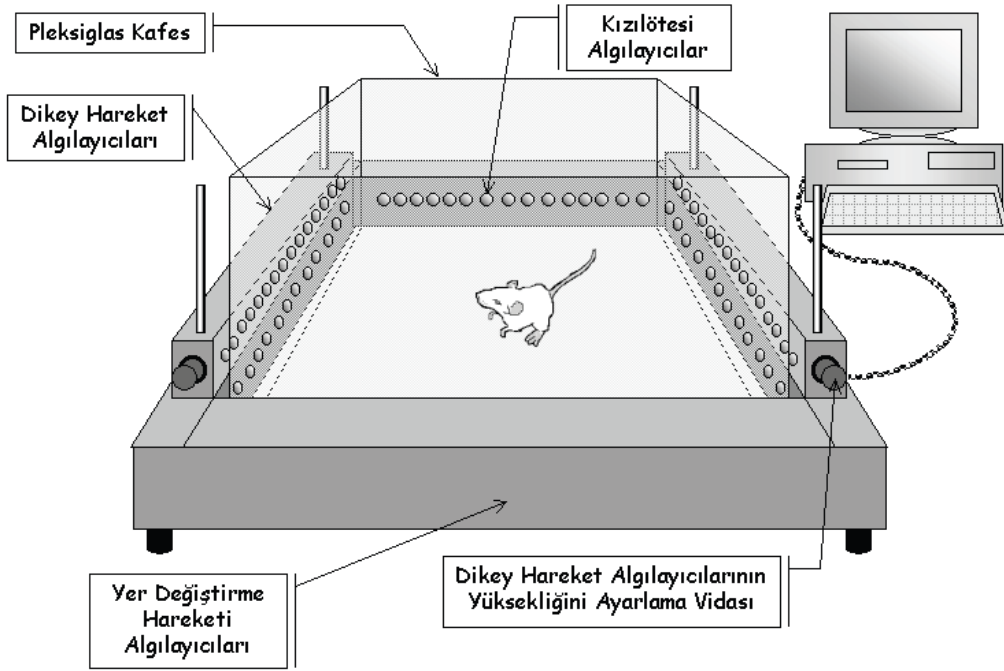
**Yer tercihi testi (posttest):** Koşullandırma bittikten sonra, ertesi gün aynı öntestteki prosedür uygulanarak sıçanlar CPP kutularında 15 dakika bırakıldı. Bu süre içerisinde yer tercihleri izlenerek kutunun beyaz tarafında geçirdikleri zaman kronometre ile belirlendi. Beyaz kısımda geçirilen zamanın hesaplanması yer tercihinin belirleme amaçlıdır.

**Tablo 1: Deney grupları enjeksiyon protokolü**

Gruplar	1. enjeksiyon	2. enjeksiyon
Kontrol	serum fizyolojik	serum fizyolojik
Morfin 10mg/kg	serum fizyolojik	morfin
20 mg/kg orfenadrin	orfenadrin	serum fizyolojik
30 mg/kg orfenadrin	orfenadrin	serum fizyolojik
Morfin + 20 mg/kg orfenadrin	orfenadrin	morfin
Morfin + 30 mg/kg orfenadrin	orfenadrin	morfin

### 3.3. Lokomotor Aktivite

Opioidler, barbitüratlar, kafein, nikotin gibi maddelerin psikomotor stimulan etkilerinin öforizan ve motivasyonel etkileriyle ilişkili olduğu öne sürülmektedir. Bu etkiler bağımlılık gelişimine önemli katkı sağlamaktadır. (Stolerman 1992; Uzbay ve ark. 1994). Motor koordinasyonu artırıcı bu etkilerden yola çıkarak kemirgenlerde lokomotor aktivitenin ölçülmektedir. Bu şekilde psikostimulanlara gelişen duyarlılaşma, tolerans ve bağımlılık incelenmektedir (Robinson ve ark. 1993). Lokomotor aktivite ölçümü ile ilaçların sedatif, psikostimulan ve kas gevşetici etkileri hakkında fikir edinilebilmektedir. Ayrıca deney hayvanlarının anksiyetesi ve agresifliği hakkında da bilgi sahibi olunması mümkün olur.



**Şekil 5: Lokomotor Aktivite Ölçüm Cihazı**

Şekil 5'te görülen sisteme bakıldığında; kenarlarda kızılötesi (IR) ışınların olduğu dörtgen, içerisinde pleksiglas bir kafes bulunmaktadır. Deney hayvanlarının kafesteki her hareketi bu IR sensörler ile tespit edilip kaydedilir. Kaydedilen hareketler; horizontal, dikey, gezinti gibi hareketlerdir. Dinlenme hareketi; deneğin durduğu yerdeki hareketleri; dikey hareket dikilme sayısını gösterirken; gezinti hareketi deneğin kafes içinde gezinme hareketlerinin sonuçlarını gösterir. Horizontal ve dikey hareketler, deney hayvanının agresifliği hakkında fikir vermektedir.

Aktivite cihazı ile birçok ayrı hareket değerleri elde edilebilecekken toplam aktivite de total lokomotor aktivite olarak ifade edilebilir ( Uzbay ve ark. 1994). Haloperidol gibi dopaminerjik antagonistler lokomotor aktivitenin azalmasına sebep olurlar (Wadenberg ve Ahlenius 1991). Benzodiazepinler ve etanol ise bifazik etki gösterirler. Düşük dozları aktivite artışına sebep olurken; yüksek dozlarda lokomotor aktiviteyi düşürürler.

Kemirgenlerde lokomotor aktivite gün içerisinde farklılık göstermektedir. Ardışık lokomotor aktivite ölçümlerinde deneklerde lokomotor aktivitenin giderek azaldığı gözlenir. Birden fazla grup ile yapılan çalışmalarda bu durumun göz önünde

bulundurulması gerekmektedir. O yüzden tüm gruplarda aktivite ölçümleri günün aynı saatlerinde yapılmalıdır (Uzby ve ark. 1994).

### **3.3.1. Çalışma Protokolü**

Çalışmada bulunan 48 adet sıçanın tamamına uygulanmıştır. Tüm gruplara ait deney hayvanları lokomotor aktivite cihazına (Şekil:5) konularak aktivite ölçümleri gerçekleştirilmiştir.

Tüm deneyler gündüz vakti ve aynı saat aralığında gerçekleştirilmiştir.

Kimsenin bulunmadığı deney odasında sıçan aktivite cihazında 5 dakika boyunca tutulmuş ve aktivitesi kaydedilmiştir. Her hayvandan sonra cihazın temizliği sağlanmış ve alkol ile temizlenmiştir. Bu şekilde sonrasında ölçümü yapılacak hayvanın cihazdaki kokudan etkilenerek aktivitesinin değişmesi engellenmiştir.

### **3.4. İstatistiksel Değerlendirme**

Elde edilen veriler, Graphpad istatistiksel programı kullanılarak değerlendirildi. Öncelikle tek yönlü varyans analizi (ANOVA) yapıldı. Grup karşılaştırmalarında Newman-Keuls testi kullanıldı. Deneyde, tüm grupların ön test verileri Student's *t* ile değerlendirildi. Anlamlılık değeri olarak  $p < 0,05$  kabul edildi.

## 4. BULGULAR

### 4.1. Deney 1: Morfin ve Orfenadrin'in Koşullanmış Yer Tercihine Etkileri

Koşullandırılmış yer tercihinde ön testte beyaz ve siyah bölmede geçirdikleri süreler Şekil 6'da gösterilmiştir. Hiç bir enjeksiyon uygulanmayan hayvanlar koşullandırma kutusuna konulduğunda siyah bölmede geçirilen ortalama süre, beyaz bölmede geçirilen ortalama süreden anlamlı olarak daha fazla ( $p<0,001$ ) bulundu.

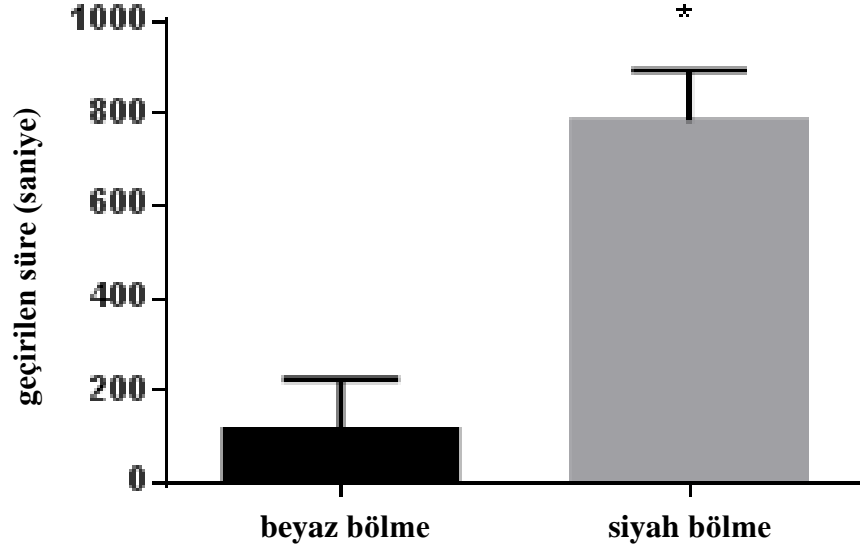
Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, morfin(10mg/kg) grubunda beyaz bölmede geçirilen süre anlamlı olarak daha fazla oldu ( $p<0,001$ ) (Şekil 7).

Orfenadrin 20mg/kg ve Orfenadrin 30 mg/kg uygulanan gruplar kontrol grubu ile karşılaştırıldığında beyaz bölmede geçirilen süre, kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık oluşturmadı. (Şekil 8)

Morfin10mg/kg + Orfenadrin 30mg/kg grubunun beyaz bölmede geçirdiği süre kontrolden anlamlı bir şekilde farklılık gösterdi( $p<0,001$ ). Morfin10mg/kg + Orfenadrin 20mg/kg grubu Kontrol ile karşılaştırıldığında anlamlı bir farklılık gösterdi ( $p<0,05$ ).

Morfin 10 mg/kg grubu ile karşılaştırmalara bakıldığında, her iki orfenadrin grubu da (Orfenadrin 20 mg/kg + Orfenadrin 30 mg/kg) kontrolden farklı olmazken, Morfin10 mg/kg + Orfenadrin 20 mg/kg grubu için beyaz bölmede geçirilen sürede anlamlı bir düşüş oldu( $p<0,05$ ) (Şekil 9).

Lokomotor aktivite ölçümü sonuçlarına bakıldığında ise, gruplar arasında herhangi bir anlamlı aktivite farklılığı görülmemiştir (Şekil 10).

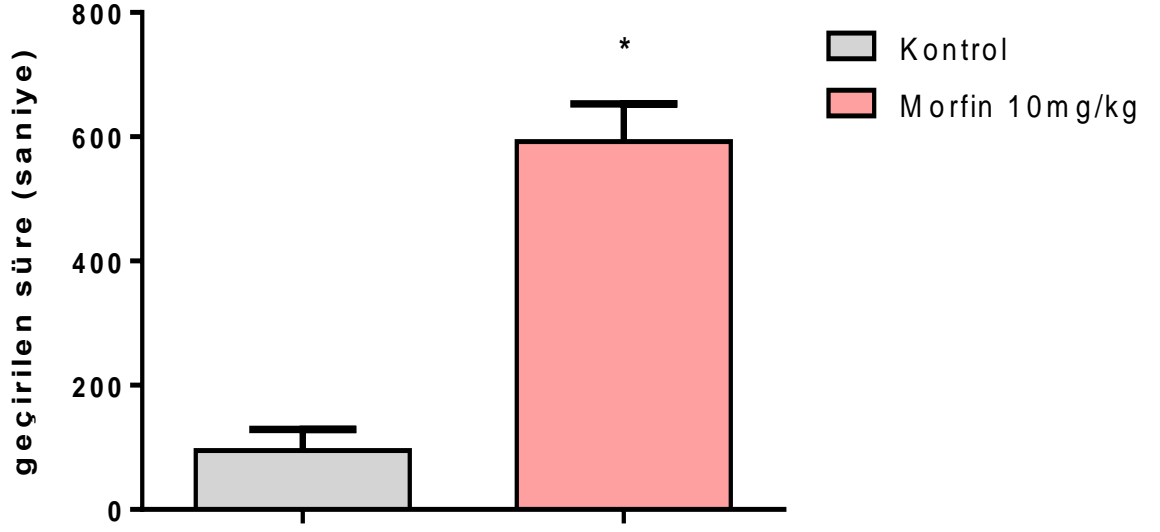


**Şekil 6: Ön testte sıçanların siyah ve beyaz bölmelerde geçirdikleri süre**

Koşullama öncesi testi için alıştırmadan 1 gün sonra hiçbir enjeksiyon yapılmayan tüm gruptaki hayvanların (toplam 48 hayvan) 15 dakika içinde siyah ve beyaz bölmelerde geçirdikleri süre saptandı. Değerler Ortalama±Standart Hata olarak verildi.

\* $p < 0,001$  delikli zemine göre

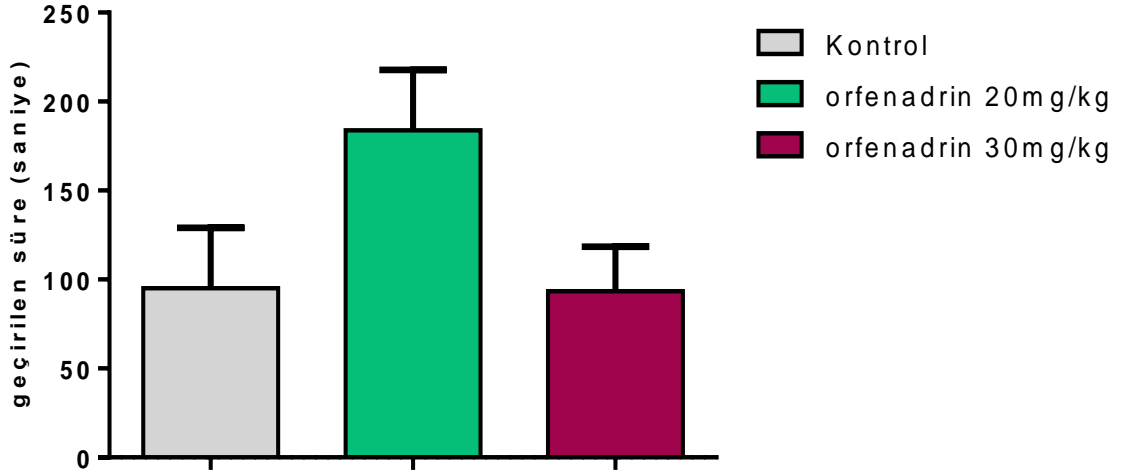




**Şekil 7: Yer tercihi testinde Kontrol ve Morfin 10 mg/kg grubundaki sıçanların siyah ve beyaz bölmelerde geçirdikleri süre**

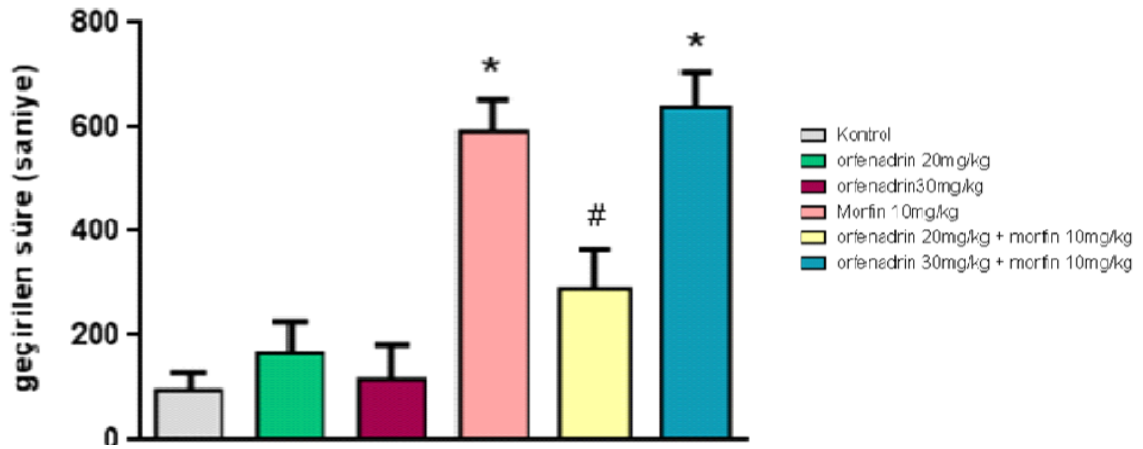
Koşullama sonrası testi için son koşullamadan 1 gün sonra kontrol ve morfin gruplarındaki sıçanların 15 dakika içinde beyaz bölmede geçirdikleri süre. Değerler Ortalama±Standart Hata olarak verildi

\* $p < 0,001$  kontrol grubuna göre



**Şekil 8: Yer tercihi testinde Kontrol, Orfenadrin 20 mg/kg ve Orfenadrin 30 mg/kg grubundaki sıçanların siyah ve beyaz bölmelerde geçirdikleri süre**

Koşullama sonrası testi için son koşullamadan 1 gün sonra kontrol, Orfenadrin 20 mg/kg ve Orfenadrin 30 mg/kg gruplarındaki sıçanların 15 dakika içinde beyaz bölmede geçirdikleri süre. Değerler Ortalama±Standart Hata olarak verildi



**Şekil 9: Yer tercihi testinde sıçanların beyaz bölmede geçirdikleri süre**

Koşullama sonrası testi için son koşullamadan 1 gün sonra kontrol, morfin, orfenadrin gruplarındaki sıçanların 15 dakika içinde delikli zeminde geçirdikleri süre. Değerler Ortalama±Standart Hata olarak verildi.

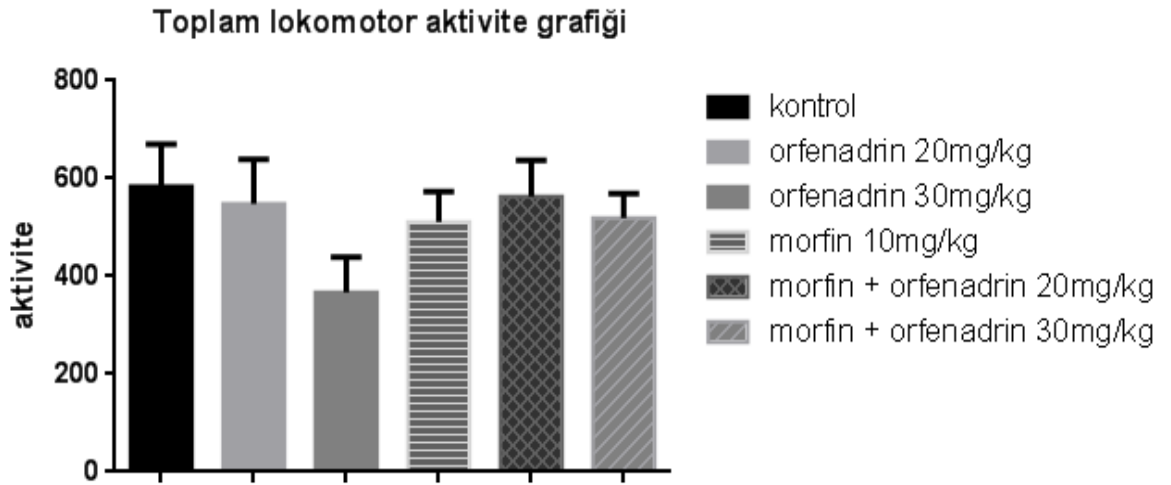
Kontrol grubuna göre \* $p < 0,001$ , Morfin grubuna göre # $p < 0,05$

**Tablo 2: Yer tercihi testinde sıçanların tüm grupların beyaz bölmede geçirdikleri süre**

	SF	Orfenadrin -20 mg	Orfenadrin -30 mg
<b>SF</b>	95,10±33,99	166,7±59,65	116,6±66,05
<b>Morfin</b>	592,7±60,06	289,5±74,84 #	638±67,28 *

Kontrol grubuna göre \* $p < 0,001$ , Morfin grubuna göre # $p < 0,01$

#### 4.2. Deney:2 Morfin ve Orfenadrin'in Lokomotor Aktiviteye Etkileri



**Şekil 10: Sıçanlarda 5 dakikada ölçülen aktivite toplamı değerlendirilmesi**

**Tablo 3: Aktivite cihazında sıçanların 5 dakika durması ile ölçülen çeşitli aktivite değerlerinin karşılaştırılması.**

	<b>Kontrol</b>	<b>Morfin10mg/kg</b>	<b>Orfenadrin 20mg/kg</b>	<b>Orfenadrin 30mg/kg</b>	<b>Morfin + Orfenadrin 20mg/kg</b>	<b>Morfin + Orfenadrin 30mg/kg</b>
<b>Horizontal</b>	759,6±150,6	540±114,9	693,1±137,4	315,2±131,6	804±137,4	624,8±69,36
<b>Dinlenme</b>	76,63±3,97	81,20±3,64	77,38±3,74	88,80±4,63	74±4,16	78,50±2,02
<b>Mesafe</b>	362,3±76,14	194,4±60,97	318,5±79,91	122,1±60,21	352,4±70,56	267,4±60,09
<b>Gezinti</b>	8,875±1,757	7,429±1,020	8,250±1,820	3,4±1,631	8,8±1,772	7,375±1,603
<b>Stereotipik</b>	14,50±2,38	13,80±2,48	14,50±2,01	7,8±2,97	17,67±2,17	16±1,92
<b>Dikey hareket</b>	6,2±1.28	3.20±1.62	5.4±1.5	3.00±0.31	8.4±1.12	3.00±0.31

## 5. TARTIŞMA

Opioid analjeziklerin kötüye kullanımı, fiziksel ve psikişik bağımlılığı sık karşılaşılan ciddi bir problemdir. Oluşan bağımlılık durumlarında tedavi yöntemleri beklenen başarı düzeyinde etkili değildir. Hızlıca tolerans gelişmesi ve bırakıldığında yoksunluk belirtileri ortaya çıktığından dolayı çok güçlü bir analjezik olsa da kullanımı kısıtlıdır. Bu yüzden opioidlerin oluşturduğu bağımlılık ve ödüllendirici etki mekanizmalarının anlaşılması ve yeni tedavi yöntemlerinin geliştirilmesi güncel bir ihtiyaçtır. Antikolinerjik ilaçlar, öforizan etkileri nedeniyle kötüye kullanım potansiyellerinin olduğu bilinmektedir. Bu etkiler kullanan kişilerde çok konuşma, özgüvende artış, toplum içinde rahat olma şeklinde tanımlanabilecek şekildedir (Gjerden ve ark. 2008). Antikolinerjikler, antipsikotik ilaçların yan etkilerinin giderilmesi amaçlı destek tedavi olarak ve Parkinson hastalığı tedavisinde kullanılmaktadır. Antipsikotik tedavi gören şizofrenili hastalar tarafından kötüye kullanım potansiyellerinin daha yüksek olabileceği bir çalışmada gösterilmiştir (Dose ve Tempel 2000). Ayrıca morfin ve farklı madde bağımlıları tarafından antikolinerjik etkili ilaçların da kullanılabilmesi düşünülmektedir (Schulte 1988). Antikolinerjiklerin ödüllendirici potansiyelleri ile ilgili yapılmış olan çalışma sayısı çok fazla değildir. Hem kendi ödüllendirme potansiyeli hem de varolan bağımlılığı pekiştirici özelliğinin olma ihtimali, araştırılması gerekli bir konudur. Bu çalışmada, hem orfenadrinin kendi ödüllendirici etkisi hem de morfinin ödüllendirici etkisi üzerindeki varlığı değerlendirilmiştir.

Koşullanmış yer tercihi (KYT) deneyleri, maddelerin ödüllendirici etkilerinin değerlendirildiği yıllardır kullanılan deneysel bir modeldir (Tzschentke 1995). Hayvanların, değişik uyaranların olduğu ortamda, koşullanma oluşturulup ilaç ile eşleşmiş ortamda bulunma davranışının değerlendirildiği bir yöntemdir. Eğer kullanılan ilacın hoş gitmeyen bir etkisi oluşursa, ilaç ile eşleşmiş bölmeden sakınma davranışı gözlenir (Tzschentke 1998). Bağımlılık yapıcı maddelerin etkileri araştırılırken kullanılan deney düzenekleri ve protokolleri açısından çok çeşitlilik gösterebilir. Kullanılan kutunun iki bölmesinde sadece zeminler farklı olabileceken (Cunningham ve ark. 2006; Davis ve ark. 2007), duvarların da farklı olduğu düzenekler kullanılabilir (Rezayof ve ark. 2006). Aynı şekilde kutuda farklı uyaranlar da bulunabilir. Kullanılan kutuların özelliklerine göre yanlı veya yansız tasarımlı deney düzenekleri ortaya çıkmaktadır. Çalışmamızda iki bölmesinin hem zemini hem de

duvarları birbirinden farklı olan bir kutu tasarımı kullanılmıştır. Kutunun tasarımı, daha önceden yapılmış farklı çalışmalar da göz önüne alınarak seçilmiştir (Suzuki ve ark. 2000). Kullandığımız kutunun tasarımı, KYT yönteminde yanlı tasarıma uygun şekildedir. Kutu tasarımları gibi çalışma protokolleri de farklılık gösterdiğinden, deney protokolümüz de yine farklı çalışmalar ele alınarak seçilmiştir (Cunningham ve ark. 2003). Deney sonunda yer tercihleri değerlendirilirken yanlı ve yansız tasarım olması durumuna göre izlenen yol farklılık gösterir. Yansız tasarımlarda ön testteki ve koşullama sonrası testte aynı bölmede geçirilen süreler kıyaslanırken (Masukawa ve ark. 1993; Harris ve ark. 2007); yanlı tasarımda kullanılan madde ile eşleşmiş bölmede geçirilen süre, kontrol grubunun o bölmede geçirdiği süre ile karşılaştırılmaktadır (Davis ve ark. 2007).

Çalışmamızda elde edilen bulgulara göre, seçtiğimiz deney tasarımı yanlı tasarıma uygun özellik göstermektedir. Ön testte kutunun siyah bölmesinde beyaza oranla daha fazla süre kaldıkları görülmüştür. Yansız tasarımlarda ise, kutunun her iki bölmesinde de deney öncesi test süresi her iki bölmede de yarı yarıya geçirmektedirler (Marchand ve ark. 2006). Kontrol grubu ve morfin(10mg/kg) grubu kıyaslanarak yer tercihinin oluşup oluşmadığına bakıldı. Morfin KYT deneylerinde birçok çalışmada da görüldüğü gibi yanlı (Davis ve ark. 2007) ve yansız tasarımlı deney düzeneklerinde de (Maleki ve ark. 2008) güçlü bir şekilde yer tercihi oluşturmaktadır. Deney sonuçlarımıza göre morfin grubundaki hayvanların beyaz zemin tercih etmesi de literatürdeki çalışmalar ile uyumlu bir şekilde morfinin yer tercihi oluşturduğunu göstermektedir (Aguilar ve ark. 2009).

Orfanadrin antihistaminik (Redjak ve ark. 2011) , antikolinergik (Sureda ve ark. 1999), anti glutaminerjik (Redjak ve ark. 2011) etkiler gösteren etanolamin grubu bir ajandır.

Çalışmamızda orfenadrinin iki dozunun (20mg/kg ve 30mg/kg) tek başına yer tercihinin etkisi ve ödüllendirici özelliği kontrol grubu ile kıyaslandı. İki farklı doz grubu da kontrol grubu ile benzer sonuçlar verdi. Farklı bir yer tercihi göstermediği, sakınma davranışı oluşturmadığı ve ödüllendirici etkisinin olmadığı gözlemlendi. Antikolinergiklerin ödüllendirme potansiyelinin olduğu bazı çalışmalarda gösterilse de (Glick ve Guido 1982), bizim çalışmamızla uyumlu şekilde, biperiden (Allahverdiyev ve ark. 2011), triheksifenidilin gibi antikolinergiklerin ödüllendirme potansiyelinin olmadığı farklı çalışmalarda gösterilmiştir (Poncelet ve ark. 1983).

Orfenadrin ve morfinin birlikte uygulandıkları gruplardan 20mg/kg orfenadrin dozu morfinin oluşturduğu yer tercihinin anlamlı derecede azalttı (morfinin bağımlılık yapıcı etkisini söndürdü). Bu etkinin orfenadrinin non-selektif N-metil-d-aspartat (NMDA) reseptör antagonisti olması ile gösterdiği düşünülmektedir. Orfenadrin'in önemli etkilerinden biri de iyonotropik glutamat reseptör alt tipi olan NMDA reseptörlerinin antagonisti olmasıdır (Sureda ve ark. 1999). Glutamat reseptör antagonistleri, ödüllendirici etkisi bulunan ilaçlar ile oluşan yer tercihi gelişmesini önlemektedir (Rezayof ve ark. 2007). Çeşitli çalışmalarda gösterildiği gibi NMDA reseptör sinyalleri VTA'da (vental tegmental alan) dopaminerjik bağlantılarda önemli role sahiptir (Hu L ve ark. 2012). Aynı şekilde opioidlerin sebep olduğu fiziksel bağımlılık üzerinde de NMDA reseptörlerinin önemli olduğu gösterilmiştir (Noda ve Nabeshima 2004). Ayrıca NMDA reseptör antagonistlerinin, bağımlılığı azaltıcı yöndeki etkileri ortaya konulmuştur (Cervo ve Samanin 1995;Tzschentke ve Schmidt 1995; Suzuki ve ark. 2000). Diğer bir çalışmada da, NMDA reseptör antagonisti memantinin akut opioid bağımlılığı gelişmesini bloke ettiği gösterilmiştir (Harris ve ark. 2008). Nöronların koşullanmaya adaptasyonu için NMDA reseptörlerinin uyarılması gerekli olduğu ve öğrenmenin gelişimi ile NMDA reseptörlerinin ilişkisinin bulunduğu pek çok çalışmada gösterilmiştir (Cervo ve samanin 1995; Rezayof ve ark. 2006). Koşullandırılmış yer tercihi deney süreci de bir öğrenme paradigmasıdır. Öğrenme süreçlerindeki nöronal plastisite modülasyonundaki NMDA reseptör etkisi, bağımlılıktaki öğrenme sürecini açıklamaktadır. Opioidler VTA'daki  $\mu$  reseptörlerini aktive ederler.  $\mu$  reseptörleri de mezokortikolimbik dopamin sistemini indirekt olarak uyarır. Bunlardan yola çıkarak dopamin (DA) ve glutamatın opioidlerin ödüllendirici özelliği ile ilişkisi gösterilmektedir (Meye ve ark. 2012). VTA ve NAc'ta dopaminerjik ve glutaminerjik sistem arasında ilişki bulunmaktadır (HU ve ark. 2012).

Yüksek doz orfenadrin (30mg/kg) ve morfinin birlikte kullanıldığı grup ile tek başına morfin kullanılan grubun yer tercihi sonuçları arasında anlamlı bir fark olmadığından etkisiz olduğu yorumu yapılabileceği gibi düşük doz orfenadrin (20mg/kg) gösterdiği morfinin bağımlılığını azaltıcı etkisini tersine çevirdiği şekilde de yorumlanabilir. Antihistaminik ve antikolinerjik maddelerin ödüllendirici etki potansiyellerine bakıldığında morfin ile birlikte kullanıldıklarında morfinin etkisini arttırabildikleri önceki çalışmalarda gösterilmiştir (Masukawa ve ark.1993). Orfenadrin 35mg/kg dozun üzerinde deneklerde nöbet benzeri etki gösterdiği bildirildiğinden (Rejdak ve ark. 2011)



çalışmamızda daha yüksek doz denenmemiştir. Orfenadrinin daha yüksek dozları kullanılmasa da morfinin değişik dozları ve orfenadrinin farklı dozlarında farklı etkilerin görülebileceği düşünülmektedir.

Yapılan birçok çalışmaya göre histaminin, koşullandırılmış yer tercihi çalışmalarında ilaçların ödüllendirici etkisini azalttığı gösterilmiştir. Morfin, VTA'da NAc'ta histamin seviyesinin azalmasına, bu azalma da DOPAC/DA oranının artmasına neden olmaktadır (Brabant ve ark. 2010). Bu şekilde ödüllendirici etki ortaya çıkmaktadır. Histaminerjik sistem, morfinin ödüllendirici özelliği üzerinde yapılan koşullanmış yer tercihi çalışmalarında inhibitör rol oynar. Histaminin, oluşturulan yer tercihi üzerinde negatif, azaltıcı yönde bir etkisi vardır (Brabant ve ark. 2010). Histidinin morfin KYT'sini inhibe ettiği gösterilmiştir (Gong ve ark. 2007). Bazı çalışmalarda ise histaminin doz bağımlı olarak yer tercihi oluşturduğu, H1 reseptör antagonisti pyrilamine'nin histamin cevabını azalttığı gösterilmiştir (Zarrindast ve ark. 2006). Histaminerjik sistemin ödüllendirme üzerindeki etkilerini dopaminerjik sistemi etkileyerek yaptığı düşünülmektedir (Suzuki ve ark. 1999). Antihistaminik etki gösteren maddelerin ise ödüllendirici etkilerinin olabileceği yönünde çalışmalar da bulunmaktadır (Masukawa ve ark.1993). Orfenadrinin antihistaminik etkisinin de olması, yüksek dozdaki morfinin oluşturduğu yer tercihinin, düşük dozdakinden farklı olarak etki etmesinin sebebi olarak düşünülmektedir. Yukarıda bahsedildiği gibi literatürde de antikolinergiklerin ve antihistaminiklerin ödüllendirici etkilerine ilişkin tartışmalı sonuçlar görülmektedir.

Lokomotor aktivite deneyinde, sıçanlar son test gününde aktivite cihazına konularak beş dakika boyunca hareketleri izlenmiştir. Sonuçlarda gruplar arası anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir. Orfenadrinin lokomotor aktiviteye etkisi ile ilgili çalışma bulunmazken, morfinin lokomotor aktiviteye etkisi ile ilgili yapılan çalışmalarda farklılık görülmektedir. Morfin aktivite artışına neden olduğu gibi; bizim çalışmamızla uyumlu olarak aktiviteyi etkilemediği sonuçlar da literatürde bulunmaktadır (Vindenes ve ark. 2009; Graves ve ark. 2012). Lokomotor aktivite çalışmalarında farklı deney prosedürleri, farklı dozlar ve aktivitesi farklı hayvanlara bağlı olarak sonuçlarda farklılıklar görülebilmektedir.

*Sonuç olarak*, orfenadrinin her iki dozunun tek başına sıçanlarda ödüllendirici etki oluşturmadığı, 20mg/kg orfenadrinin morfinin oluşturduğu yer tercihinin anlamlı bir şekilde azalttığı gözlenmiştir. Bu durumun nedeni NMDA reseptör antagonisti özelliği göstermesinden kaynaklı olduğu düşünülmektedir. 30mg/kg orfenadrin ise morfinle

birlikte kullanıldığında pekiştirici ya da yer tercihini azaltıcı etki göstermemiştir. Orfenadrinin antikolinergic, antihistaminik, antiglutaminerjik gibi farklı etkileri bulunduğundan mekanizmayı anlamak için, bu sistemlerin agonist ve antagonistlerinin kullanıldığı ayrıntılı çalışmaların yapılması gerektiği düşünölmektedir.

## 6. KAYNAKLAR

Aguilar, M.A., Rodriguez-Arias, M. ve Minarro, J. (2009). Neurobiological mechanisms of the reinstatement of drug-conditioned place preference. *Brain Research Reviews*. **59**, 253-277.

Allahverdiyev, O., Nurten, A. ve Enginar N. (2011). Assessment of rewarding and reinforcing properties of biperiden in conditioned place preference in rats. *Behavioural Brain Research*. **225**, 642-645.

Bardo, M.T. ve Bevins, R.A. (2000). Conditioned place preference: what does it add to our preclinical understanding of drug reward? *Psychopharmacology*. **153**, 31-43

Brabant C, Alleva L, Quertemont E ve Tirelli E. (2010). Involvement of the brain histaminergic system in addiction and addiction-related behaviors: a comprehensive review with emphasis on the potential therapeutic use of histaminergic compounds in drug dependence. *Progress in Neurobiology*. **92**, 421-441.

Brunton, L. L. (Ed), Chabner B. A. (ass. Ed.), Knollmann B. C. (ass. Ed.). (2010). *Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis Of The Therapeutics* (12th ed.). New York. McGraw-Hill Companies Inc.; 547-584

Cervo, L. ve Samanin, R. (1995). Effects of dopaminergic and glutamatergic receptor antagonists on the acquisition and expression of cocaine conditioning place preference. *Brain Research*. **6**, 673:242-250.

Christensen, R.C. (1995). Misdiagnosis of anticholinergic delirium as schizophrenic psychosis. *American Journal of Emergency Medicine*. **13**, 117-118.

Cunningham, C.L., Ferree, N.K. ve Howard, M.A. (2003). Apparatus bias and place conditioning with ethanol in mice. *Psychopharmacology*. **170**, 409-422.

Cunningham, C.L., Gremel, C.M. ve Groblewski, P.A. (2006). Drug-induced conditioned place preference and aversion in mice. *Nature Protocols*. **1**, 1662-1670.

- Czuczwar, M., Cieszczyk, J., Czuczwar, K., Kis, J., Saran, T. ve Turski, W.A. (2009). Influence of orphenadrine upon the protective activity of various antiepileptics in the maximal electroshock-induced convulsions in mice. *Pharmacological Reports*. **6**, 732–736
- Davis, C.M., Roma, P.G., Dominguez, J.M. ve Riley, A.L. (2007). Morphine-induced place conditioning in Fischer and Lewis rats: Acquisition and dose-response in a fully biased procedure. *Pharmacology Biochemistry Behavior*. **86**, 516-523.
- Dose, M. ve Tempel, H.D. (2000). Abuse potential of anticholinergics. *Pharmacopsychiatry*. **33**, 43-46.
- Gjerden, P., Bramness, J.G.ve Slørdal, L. (2008). Effect of warnings in a medical journal on the use of orphenadrine. *Journal Of Evaluation In Clinical Practice*. **14**, 615-617.
- Gjerden, P., Slørdal, L.ve Bramness, J.G. (2009). The use of antipsychotic and anticholinergic antiparkinson drugs in Norway after the withdrawal of orphenadrine *British Journal of Clinical Pharmacology*. **6**, 238-242.
- Glick, S.D. ve Guido, R.A. (1982). Scopolamine self-administration: cholinergic involvement in reward mechanisms. *Life Sciences*, **31**, 909-913.
- Golan, D. E., Tashjian, A. H., Armstrong, E. J., Armstrong, A. W. (2007). Principles of Pharmacology: The Pathophysiologic Basis of Drug Therapy (2nd ed.). Philadelphia. Lippincott Williams and Wilkins;284-305
- Gong, Y.X., Lv, M., Zhu, Y.Y., Wei, E.Q., Shi, H. ve ark. (2007). Endogenous histamine inhibits the development of morphine-induced conditioned place preference. *Acta Pharmacologica Sinica*. **28**, 10-18.
- Grace, R.F. (1997). Benztropine abuse and overdose case report and review. *Reaction Toxicology Review*. **16**, 103-112.
- Graves, S.M., Persons, A.L., Riddle, J.L. ve Napier, T.C. (2012). The atypical antidepressant mirtazapine attenuates expression of morphine induced place preference and motor sensitization. *Brain research*. **7**,1472:45-53.

- Guloksuz, S., Eren, K. ve Gurol, D.T. (2009). A case of oxybutynin dependency. *General Hospital Psychiatry*. **32**, e5-6.
- Harris, A.C., Rothwell, P.E. ve Gewirtz, J.C. (2008). Effects of the NMDA receptor antagonist memantine on the expression and development of acute opiate dependence as assessed by withdrawal-potentiated startle and hyperalgesia. *Psychopharmacology*. **196**, 649-660.
- Harris, G.C., Hummel, M., Wimmer, M., Mague, S.D. ve Aston-Jones, G.E. (2007). Elevations of FosB in the nucleus accumbens during forced cocaine abstinence correlate with divergent changes in reward function. *Neuroscience*. **147**, 583-591.
- Hu, L., Jing, X.H., Cui, C.L., Xing, G.G. ve Zhu, B. (2012). NMDA receptors in the midbrain play a critical role in dopamine-mediated hippocampal synaptic potentiation caused by morphine. *Addiction Biology*. doi: 10.1111/adb.12010.
- Hyman, S.E., Malenka, R.C. ve Nestler, E.J. (2006). Neural mechanisms of addiction: the role of reward-related learning and memory. *Annual review of neuroscience*. **29**, 565-598.
- Kawasaki, Y., Jin, C., Suemaru, K., Kawasaki, H., Shibata, K., Choshi, T., Hibino, S., Gomita, Y. ve Araki, H. (2005). Effect of glutamate receptor antagonists on place aversion induced by naloxone in single-dose morphine-treated rats. *British Journal of Pharmacology*. **145**, 751-757.
- Kayaalp, S.O. (2005). *Tıbbi Farmakoloji*. 11. baskı. Ankara: Hacettepe-Taş Kitapçılık. 796-815
- Koob, G.F. ve Bloom, F.E. (1988). Cellular and molecular mechanisms of drug dependence. *Science*. **242**, 715-723.
- Kotlinska, J. (2001). Attenuation of morphine dependence and withdrawal by glycine<sub>B</sub> site antagonists in rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. **68**, 157-161.

- Maleki, S.A., Samini, M., Babapour, V., Mehr, S.E., Cheraghiyan, S. ve Nouri, M.H. (2008). Potentiation of morphine-induced conditioned place preference with concurrent use of amantadine and fluvoxamine by the intraperitoneal and intracerebroventricular injection in rat. *Behavioural Brain Research*, **190**, 189-192.
- Marchand, S., Betourne, A., Marty, V., Daumas, S., Halley, H., Lassalle, J.M., Zajac, J.M. ve Frances, B. (2006). A neuropeptide FF agonist blocks the acquisition of conditioned place preference to morphine in C57Bl/6J mice. *Peptides*. **27**, 964-972.
- Masukawa, Y., Suzuki, T. ve Misawa, M. (1993). Differential modification of the rewarding effects of methamphetamine and cocaine by opioids and antihistamines. *Psychopharmacolog.* **III**, 139-143.
- Meye, F.J., van Zessen, R., Smidt, M.P., Adan, R.A.ve Ramakers, G.M. (2012). Morphine withdrawal enhances constitutive  $\mu$ -opioid receptor activity in the ventral tegmental area. *Journal of Neuroscience*. **14**, 32:16120-16128.
- Millar, W.M. (1977). Deaths after overdoses of orphenadrine, *Lancet* **2**, 566.
- Mucha, R.F., van der Kooy, D., O'Shaughnessy, M. ve Bucenieks, P. (1982) Drug reinforcement studied by the use of place conditioning in rat. *Brain Research*. **243**, 91-105.
- Nestler, E., Hyman, S., Malenka, R. (2008). *Molecular Neuropharmacology: A Foundation for Clinical Neuroscience* (2nd ed.). New York. McGraw-Hill Companies Inc.:364-400
- Noda, Y. ve Nabeshima, T. (2004). Opiate physical dependence and N-methyl-D-aspartate receptors. *European Journal of Pharmacology*.**500**, 121-128.
- Poncelet, M., Chermat, R., Soubrie, P. ve Simon, P. (1983). The progressive ratio schedule as a model for studying the psychomotor stimulant activity of drugs in the rat. *Psychopharmacology*. **80**, 184-189.

Porsolt, R.D., Lemaire, M., Dürmüller, N. ve Roux, S. (2002). New perspectives in CNS safety pharmacology. *Fundamental & Clinical Pharmacology*. **16**, 197-207.

Pullen, G.P., Best, N.R. ve Maguire, J. (1984). Anticholinergic drug abuse: a common problem? *British Medical Journal (Clinical Research Ed.)*. **8**, 289:612-613.

Rejdak, K., Nieoczym, D., Czuczwar, M., Kiś, J., Wlaź, P. ve Turski, W.A. (2011). Orphenadrine induces secondarily generalized convulsive status epilepticus in rats. *Brain Research*. **5**, 84:389-393.

Rezayof, A., Zatali, H., Haeri-Rohani, A. ve Zarrindast, M.R. (2006). Dorsal hippocampal muscarinic and nicotinic receptors are involved in morphine-reward. *Brain Research*. **166**, 281-290.

Rezayof, A., Golhasani-Keshtan, F., Haeri-Rohani, A. ve Zarrindast, M.R. (2007). Morphine-induced place preference: involvement of the central amygdala NMDA receptors. *Brain Research*. **16**, 1133:34-41.

Ribeiro Do Couto, B., Aguilar, M.A., Manzanedo, C., Rodríguez-Arias, M. ve Miñarro, J. (2004). Effects of NMDA receptor antagonists (MK-801 and memantine) on the acquisition of morphine-induced conditioned place preference in mice, *Progress in Neuro-psychopharmacology & Biological Psychiatry*. **28**, 1035-1043.

Robinson, T.E. ve Berridge, K.C. (1993). The neural basis of drug craving: an incentive-sensitization theory of addiction. *Brain Research Reviews*. **18**, 247-291

Schulte, R.M. (1988). Biperiden abuse as a partial factor factor in polytoxicomania. *Psychiatrische Praxis*. **15**, 53-56.

Shimosato, K. ve Watanabe, S. (2003). Concurrent evaluation of locomotor response to novelty and propensity toward cocaine conditioned place preference in mice. *Journal of Neuroscience Methods*. **128**, 103-110.

Smith, J.M. (1980). Abuse of the antiparkinson drugs: a review of the literature. *Clinical Psychiatry*. **41**, 351-354.

Stolerman, I. (1992). Drugs of abuse: behavioural principles, methods and terms. *Trends in Pharmacological Sciences*. **13**, 170-176.

Sureda, F.X., Gabriel, C., Pallàs, M., Adan, J., Martínez, J.M., Escubedo, E., ve ark. (1999). In vitro and in vivo protective effect of orphenadrine on glutamate neurotoxicity. *Neuropharmacology*. **38**, 671-677.

Suzuki, T., Kato, H., Aoki, T., Tsuda, M., Narita, M. ve Misawa, M. (2000). Effects of the non-competitive NMDA receptor antagonist ketamine on morphine-induced place preference in mice. *Life Sciences*. **16**, 67:383-389.

Tanda, G. Ve ark. (2007). Effects of muscarinic M1 receptor blockade on cocaine-induced elevations of brain dopamine levels and locomotor behavior in rats. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. **321**, 334-344.

Tzschentke, T.M. ve Schmidt, W.J. (1995). N-methyl-D-aspartic acid-receptor antagonists block morphine-induced conditioned place preference in rats. *Neuroscience Letters*. **23**, 193:37-40.

Tzschentke, T.M. (1998). Measuring reward with the conditioned place preference paradigm: a comprehensive review of drug effects, recent progress and new issues. *Progress in Neurobiolog.* **56**, 613-672

Tzschentke, T.M. (2007). Measuring reward with the conditioned place preference (CPP) paradigm: update of the last decade. *Addiction Biology*. **12**, 227-462.

Ueda, H., Inoue, M. ve Mizuno, K. (2003). New approaches to study the development of morphine tolerance and dependence. *Life Sciences*. **74**, 313-320.

Uzbay, I.T., Akarsu, E.S. ve Kayaalp, S.O. (1994). Effects of bromocriptine and haloperidol on ethanol withdrawal syndrome in rats. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*. **49**, 969-974.

Vindenes, V., Ripel, A., Handal, M., Boix, F. Ve Morlanda, J. (2009). Interactions between morphine and the morphine-glucuronides measured by conditioned place preference and locomotor activity. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*. **93**, 1-9



Wadenberg, M.L. ve Ahlenius, S. (1991). Effects of raclopride and haloperidol on spontaneous motor activity and on conditioned avoidance behavior in rats. A comparison of potency, efficacy and time-course of action. *Arzneimittel-Forschung*. **41**, 692-695.

Zarrindast, M.R., Moghimi, M., Rostami, P. ve Rezayof, A. (2006). Histaminergic receptors of medial septum and conditioned place preference: D1 dopamine receptor mechanism. *Brain Research*. **13**, 1109:108-116.

## ETİK KURUL KARARI



T.C  
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ  
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU



Sayı: 2012/ 173

02/01/ 2013

Sn: Doç. Dr. Sibel ÖZYAZGAN  
İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi

Karar No :2012/ 173

Başvuru :18.12.2012

Sorumluluğunu üstlendiğiniz, aşağıda çalışma materyali belirtilen **Yüksek Lis. Öğr. Çağla KARAKULAK**'a ait "Orfenadrin'in Sıçanlarda Morfinin Ödüllendirici Özelliğine ve Morfine Bağımlılık Gelişmesine Etkileri" isimli projeniz Kurulumuz tarafından incelenmiş ve Etik Kurul ilkelerine uygun bulunmuştur.

Çalışılacak Hayvanın	Türü	Sıçan
	Cinsiyeti	Erkek
	Sayısı	48
Proje Başlangıç/Bitiş Tarihi		15.01.2013/15.09.2013

Prof. Dr. Alev AKDOĞAN KAYMAZ  
İ.Ü.HADYEK Başkanı

Prof. Dr. Mehmet YALTIRIK  
İ.Ü.HADYEK Başkan Yardımcısı

Prof. Dr. Pinar YAMANTÜRK ÇELİK  
Üye

Prof. Dr. Ufuk ÇAKATAY  
Üye

Doç. Dr. Alper OKYAR  
Üye

Yard. Doç. Dr. Altan ARMUTAK  
Üye

Uzm.Vet.Hek.Fatma TEKELİ  
Üye

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

Avukat Selma DEMİR  
Üye

## ÖZGEÇMİŞ

### Kişisel Bilgiler

<b>Adı</b>	Çağla	<b>Soyadı</b>	Karakulak
<b>Doğ.Yeri</b>	Fatih - İstanbul	<b>Doğ.Tar.</b>	07.05.1989
<b>Uyruğu</b>	T.C.	<b>TC Kim No</b>	43855561760
<b>Email</b>	<a href="mailto:karakulakcagla@gmail.com">karakulakcagla@gmail.com</a>	<b>Tel</b>	0555 432 7969

### Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mez. Yılı
<b>Doktora</b>		
<b>Yük.Lis.</b>	İstanbul Üniversitesi	2014
<b>Lisans</b>	Ege Üniversitesi	2011
<b>Lise</b>	Vefa Anadolu Lisesi	2007

### İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

	Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
1.			-
2.			-
3.			-

<b>Yabancı Dilleri</b>	<b>Okuduğunu Anlama*</b>	<b>Konuşma*</b>	<b>Yazma*</b>	<b>KPDS/ÜDS Puanı</b>	<b>(Diğer) Puanı</b>
<b>İngilizce</b>	İyi	İyi	İyi	58	
<b>Almanca</b>	Zayıf	Zayıf	Zayıf		

\*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

	<b>Sayısal</b>	<b>Eşit Ağırlık</b>	<b>Sözel</b>
<b>LES Puanı</b>			
<b>(Diğer) Puanı</b>			

### **Bilgisayar Bilgisi**

<b>Program</b>	<b>Kullanma becerisi</b>
Microsoft Office	İyi

### **Yayınları/Tebliğleri Sertifikaları/Ödülleri**

### **Özel İlgi Alanları (Hobileri):**