



**T.C.
SIVAS CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**SEROTONİN RESEPTÖRLERİ 5-HT₃ VE 5-HT₇ NİN
SIÇANLARDA MORFİN ANALJEZİSİ VE TOLERANSINA
ETKİLERİ**

ŞEYMA ÖZSOY

**DOKTORA TEZİ
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI**

SIVAS-2019

**T.C.
SİVAS CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**SEROTONİN RESEPTÖRLERİ 5-HT3 VE 5-HT7 NİN
SIÇANLARDA MORFİN ANALJEZİSİ VE TOLERANSINA
ETKİLERİ**

ŞEYMA ÖZSOY

**DOKTORA TEZİ
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**TEZ DANIŞMANI
DOÇ. DR. ERCAN ÖZDEMİR**

SİVAS-2019

ONAY SAYFASI

“Serotonin Reseptörleri 5-HT3 ve 5-HT7’nin Sıçanlarda Morfin Analjezisi ve Toleransına Etkileri” adlı **Doktora** Tezi, Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Tez Yazım Kılavuzuna uygun olarak hazırlanmış ve jürimiz tarafından Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü **Fizyoloji** Ana Bilim Dalında **Doktora** tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan

Prof. Dr. Cem SÜER

Üye

Prof. Dr. Nurcan DURSUN

Üye

Doç. Dr. Sema Tülay KÖZ

Üye

Dr. Öğr. Üyesi Ahmet Kemal FİLİZ

Üye (Danışman)

Doç. Dr. Ercan ÖZDEMİR

ONAY

Bu tez çalışması, tarihinde Enstitü Yönetim Kurulu tarafından belirlenen ve yukarıda imzaları bulunan jüri üyeleri tarafından kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Zübeyda AKIN POLAT
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MÜDÜRÜ

Bu tez, Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Senatosu'nun 18.02.2015 tarihli ve 4/4 sayılı kararı ile kabul edilen Sağlık Bilimleri Enstitüsü "**Lisansüstü Tez Yazım Kılavuzuna**" göre hazırlanmıştır.

Bu çalışma Cumhuriyet Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir (CÜBAP Proje No: T-735).

TEŞEKKÜR

Eğitimim boyunca akademik uygulama anlayıőıyla engin tecrube ve bilgisinden yararlandđđım, özverili yaklaőımıyla bu tezin hazırlanmasının tüm aőamasında bilgisiyle sınırsızca destek olan değerli danışman hocam Doç. Dr. Ercan ÖZDEMİR'e, laboratuvar çalıőmalarımnda bilgi ve deneyimlerinden faydalandđđım Doç. Dr. Fikret GEVREK'e, tez çalıőmam boyunca her zaman yanımda olan, destek ve yardımlarını esirgemeyen Arş. Gör. Handan GÜNEŞ'e, emeği ve tecrubesıyla tezime katkıda bulunan Arş. Gör. Dr. Ahmet Şevki TAŞKIRAN'a ve verdikleri destek ve sevgiyle her zaman yanımda olan sevgili aileme, eőime ve çocuklarıma teşekkür ederim.

Şeyma ÖZSOY

SEROTONİN RESEPTÖRLERİ 5-HT₃ VE 5-HT₇ NİN SIÇANLARDA MORFİN ANALJEZİSİ VE TOLERANSINA ETKİLERİ

Şeyma ÖZSOY

Doktora Tezi

Fizyoloji Anabilim Dalı, 2019

Danışman: Doç. Dr. Ercan ÖZDEMİR

ÖZET

Morfin, akut ve kronik ağrı tedavisi için yaygın olarak kullanılır. Ancak, analjezik etkisine karşı tolerans gelişimi kullanımını sınırlamaktadır. Serotonerjik sistem aktivasyonunun morfine karşı tolerans gelişiminde etkili olabileceği çalışmalarda bildirilmektedir. Bu çalışmada amacımız, morfin analjezisi ve tolerans gelişiminde serotonin 5-HT₃ ve 5-HT₇ reseptör etkilerini analjezi testleri ve immünohistokimyasal yöntemler kullanarak araştırmaktır.

Çalışmaya 90 adet (220-260 gr) Wistar Albino sıçan dahil edildi. Morfine karşı tolerans indüklemek için sıçanlara 3 gün boyunca morfin (50 mg/kg, s.c) verildi ve 4. gün son doz morfin sonrası analjezi testleri ile tolerans değerlendirmesi yapıldı. 5-HT₃ reseptör agonisti 1-phenylbiguanide (PBG), 5-HT₃ reseptör antagonisti ondansetron (ODN), 5-HT₇ reseptör agonisti AS 19 ve 5-HT₇ reseptör antagonisti SB-269970'in morfinin analjezisi ve toleransına etkileri tail-flick ve hot-plate analjezi testlerinde 30 dakika aralıklarla (0, 30, 60, 90 ve 120. dk) ölçüldü (n=6). Tüm gruplara ait sıçanlar, analjezi ölçümlerinden sonra immünohistokimyasal analizler için servikal dislokasyon ile sakrifiye edilerek dorsal kök gangliyonları izole edildi.

ODN ve AS 19 morfinin analjezik etkisini istatistiksel olarak anlamlı artırdı (p<0,05). SB-269970, morfin analjezisi üzerine anlamlı bir etki göstermezken, PBG morfinin analjezik etkisini anlamlı olarak azalttı (p<0,05). Morfin tolerat sıçanlara ODN ve AS 19 verilmesi ile morfinin analjezik etkinliğinde anlamlı artış görüldü (p<0,05). Dorsal kök gangliyonlarındaki 5-HT₃ ve 5-HT₇ ekspresyonları, morfin tolerat gruplarında anlamlı olarak artış gösterdi (p<0,01).

Sonuç olarak, elde edilen bulgular 5-HT₃ ve 5-HT₇ reseptör sisteminin morfinin analjezik etkisine karşı tolerans gelişiminde önemli bir rol oynadığını göstermiştir. Ayrıca, 5-HT₃ ve 5-HT₇ reseptör ekspresyonlarının morfin tolerat gruplarda artışı, tolerans gelişiminin spinal kord seviyesinde olduğunu ortaya koymuştur.

Anahtar Sözcükler: Morfin, Tolerans, Serotonin, 5-HT₃ reseptör, 5-HT₇ reseptör

THE EFFECTS OF 5-HT₃ AND 5-HT₇ SEROTONIN RECEPTORS ON MORPHINE ANALGESIA AND TOLERANCE IN RATS

Şeyma ÖZSOY

Ph.D. Thesis

Department of Physiology, 2019

Supervisor: Assoc. Dr. Ercan OZDEMİR

ABSTRACT

Morphine is widely used for treatment of acute and chronic pain. However, development of tolerance to the analgesic effect limits its use. The recent studies has been reported that serotonergic system activation may be effective in development of tolerance to morphine. The aim of this study is to investigate the effects of serotonin 5-HT₃ and 5-HT₇ receptor agonists and antagonists on morphine analgesia and tolerance using analgesia tests and immunohistochemical methods.

The study was carried out with ninety wistar albino (220-260) rats. To induce tolerance to morphine, rats were given morphine (50 mg / kg, s.c) for 3 days, and tolerance assessment was performed by post-morphine analgesia tests on day 4. Effects of 5-HT₃ receptor agonist 1-phenylbiguanide (PBG), 5-HT₃ receptor antagonist ondansetron (ODN), 5-HT₇ receptor agonist AS 19 and 5-HT₇ receptor antagonist SB-269970 on morphine analgesia and tolerance tail-flick and hot-plate analgesia tests were performed at 30 min intervals (0, 30, 60, 90 and 120 min) (n = 6). After analgesia measurements, all groups of rats were sacrificed by cervical dislocation and dorsal root ganglia were isolated for immunohistochemical analysis.

ODN and AS 19 significantly increased the analgesic effect of morphine (p<0.05). When morphine is combined with both ODN and AS 19, the analgesic effect of morphine showed a significant increase (p<0.05). SB-269970 showed no statistically significant difference on morphine analgesia, but that PBG significantly reduced the analgesic effect of morphine (p<0.05). The analgesic efficacy of morphine was significantly increased in morphine tolerant rats given ODN and AS19 (p<0.05). Expressions of 5-HT₃ and 5-HT₇ in dorsal root ganglia increased significantly in morphine tolerant groups (p <0.01).

In the conclusion, the results showed that the 5-HT₃ and 5-HT₇ receptor system plays an important role in the development of tolerance to the analgesic effect of morphine. In addition, increase of 5-HT₃ and 5-HT₇ receptor expressions in morphine tolerant groups revealed that the development of tolerance was at the spinal cord level.

Keywords: Morphine, Tolerance, Serotonin, 5-HT₃ receptor, 5-HT₇ receptor

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

TEŞEKKÜR	v
ÖZET	vi
ABSTRACT	vii
İÇİNDEKİLER.....	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	xi
TABLolar DİZİNİ.....	xii
KISALTMALAR DİZİNİ	xiii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Ağrı	3
2.1.2. Ağrı Reseptörleri ve Primer Afferentler	5
2.1.3. Nosisepsiyon.....	7
2.1.4. Ağrının Algılanması	10
2.1.5. Ağrı Teorileri.....	11
2.1.6. Ağrı Mekanizmaları.....	14
2.1.7. Spinal Kord.....	14
2.2. Ağrı Yolakları	16
2.2.1. Santral Çıkan Yollar	16
2.2.1.1. Spinotalamik Yol	18
2.2.1.2. Postsinaptik Dorsal Kolon Yolu	18
2.2.1.3. Spinoretiküler Yollar	19
2.2.1.4. Spinotalamik, Limbik ve Kortikal Bağlantılar	19
2.2.2. İnen Yolların Ağrı Modülasyonu	20
2.3. Ağrı Ölçümünde Kullanılan Deneysel Modeller	22
2.3.1. Termal Uyarının Kullanıldığı Testler.....	22

2.3.2. Mekanik Uyarının Kullanıldığı Testler	23
2.3.3. Kimyasal Uyarının Kullanıldığı Testler	23
2.4. Opioid Analjezikler	24
2.4.1. Opioid Reseptörler	24
2.4.2. Opioid Reseptör Alt Tipleri	25
2.4.2.1. Mu Opioid Reseptör (MOR)	25
2.4.2.2. Kappa Opioid Reseptör (KOR)	26
2.4.2.3. Delta Opioid Reseptör (DOR)	26
2.4.2.4. Nosisetin Orfanin FQ reseptörleri (NOR/ORL1)	26
2.4.3. Opioid Reseptörlerin Moleküler Mekanizması	27
2.4.4. Opioid Tolerans Mekanizması	29
2.5. Serotonin	31
2.5.1. Serotonin Reseptörlerinin Ağrı Modülasyonu	33
2.5.2. 5-HT ₃ Reseptörleri	34
2.5.3. 5-HT ₇ Reseptörleri	35
2.5.4. Serotonin Reseptörlerin Opioid Analjezisi Üzerine Etkileri	37
2.6. Hipotez	39
3. GEREÇ VE YÖNTEM	40
3.1. Deney Hayvanları	40
3.2. Deney Grupları	40
3.3. Kimyasallar ve Uygulama Şekilleri	41
3.4. Termal Analjezi Ölçümü	42
3.4.1. Tail-Flick Testi	42
3.4.2. Hot-Plate Testi	43
3.4.3. Morfin Tolerans İndüksiyonu	44
3.4.4. Analjezi Ölçüm Verilerinin Analizi	44
3.5. Histolojik Analizler	44
3.5.1. İmmünohistokimyasal Analiz	46
3.5.2. Semiquantitative H-Score analizi	46
3.6. İstatistiksel Değerlendirme	47
4. BULGULAR	48
4.1. Morfinin Doza Bağlı Analjezik Etkileri	48

4.2. Ondansetron ve 1-Phenylbiguanide'in Morfin Analjezisi Üzerine Etkileri.....	49
4.3. AS 19 ve SB-269970'in Morfin Analjezisi Üzerine Etkileri.....	51
4.4. Ondansetron ve 1-Phenylbiguanide'in Morfin Toleransı Üzerine Etkileri.....	53
4.5. AS 19 ve SB-269970'in Morfin Toleransı Üzerine Etkileri	55
4.6. İmmünohistokimyasal Bulgular	57
4.6.1. 5-HT ₃ Ekspresyonunun Belirlenmesi	58
4.6.2. 5-HT ₇ Ekspresyonunun Belirlenmesi	61
5. TARTIŞMA.....	64
6. SONUÇ.....	74
7. KAYNAKLAR.....	75
EKLER.....	92
ÖZGEÇMİŞ.....	93

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No

Şekil 1. Nosisepsiyon aşamaları	11
Şekil 2. Ağrı teorileri	13
Şekil 3. Nosiseptörlerin spinal kordda anatomik gösterimi.....	16
Şekil 4. Ağrı sinyallerinin iletimi ve modülasyonunda rol oynayan yollar	17
Şekil 5. Endojen ağrı modülasyon sistemi	21
Şekil 6. Opioid reseptör sinyal mekanizması	28
Şekil 7. 5-HT ₃ reseptör sinyal yolağı.....	35
Şekil 8. 5-HT ₇ reseptör sinyal yolağı.....	36
Şekil 9. Tail-flick testi	42
Şekil 10. Hot-plate testi	43
Şekil 11. Sıçanlardan dorsal kök gangliyonu izole edilmesi	45
Şekil 12. Stereo diseksiyon mikroskobunda dorsal kök gangliyonu görüntüsü	45
Şekil 13. PBG ve ODN'nin morfin analjezisi üzerine etkileri	50
Şekil 14. AS 19 ve SB-269970'in morfin analjezisi üzerine etkileri.....	52
Şekil 15. PBG ve ODN'nin morfin tolerans üzerine etkileri	54
Şekil 16. AS 19 ve SB-269970'in morfin toleransı üzerine etkileri.....	56
Şekil 17. Dorsal kök gangliyon nöronu immünohistokimyasal boyanma skorlaması....	57
Şekil 18. Dorsal kök gangliyon nöron kesitlerinde 5-HT ₃ reseptörü ekspresyonu	59
Şekil 19. 5-HT ₃ agonisti PBG ekspresyonunun H-Score ortalama değerleri.. ..	60
Şekil 20. 5-HT ₃ antagonisti ODN ekspresyonunun H-Score ortalama değerleri.. ..	60
Şekil 21. Dorsal kök gangliyon nöron kesitlerinde 5-HT ₇ reseptörü ekspresyonu.....	62
Şekil 22. 5-HT ₇ agonisti AS 19 ekspresyonunun H-Score ortalama değerleri.....	63
Şekil 23. 5-HT ₇ antagonisti SB 269970 ekspresyonunun H-Score ortalama değerleri... 63	

TABLULAR DİZİNİ

Sayfa No

Tablo 1. Afferent liflerin karakteristik özellikleri	6
Tablo 2. Doku hasarına neden olan uyarılar ile salınan kimyasal maddeler.....	8
Tablo 3. Opioid reseptör alt tipleri, lokasyonu ve fonksiyonları	25
Tablo 4. Serotonin reseptör alt tipleri yapısı, fonksiyonu ve karakteristik özellikleri....	32
Tablo 5. Deney ve kontrol grupları.....	41
Tablo 6. Morfinin doza bağlı analjezik etkileri	48



KISALTMALAR DİZİNİ

5-HT	Serotonin
5-HT₃	Serotonin 3 reseptörü
5-HT₇	Serotonin 7 reseptörü
AC	Adenilat Siklaz
ATP	Adenozin Trifosfat
cAMP	Siklik Adenozin Monofosfat
CCK	Kolesistokinin
cGMP	Siklik Guanozin Monofosfat
CGRP	Kalsitonin Geni İle İlişkili Peptit
COX	Siklooksijenaz
DA	Dopamin
DKG	Dorsal Kök Gangliyonu
DOR	Delta Opioid Reseptör
ERK	Ekstrasellüler Sinyal Regüle Kinaz
GABA	γ -Aminobutirik Asit
GDP	Guanozin Difosfat
GPCR	G Protein Bağlı Reseptör
GTP	Guanozin Trifosfat
HP	Hot-Plate
IASP	Uluslararası Ağrı Araştırmaları Derneği
IL-1	İnterlökin-1
IL-6	İnterlökin-6
i.p.	İntraperitoneal
JNK	c-Jun N-Terminal Kinaz
KOR	Kappa Opioid Reseptör
MAPK	Mitojen Aktiviteli Protein Kinaz
MOR	Mu Opioid Reseptör
MSS	Merkezi Sinir Sistemi
NMDA	N-Metil-D-Aspartik Asit
NO	Nitrik Oksit

NOR/ORL1	Nosiseptin Orfanin FQ reseptörleri
NOS	Nitrik Oksit Sentaz
nPGİ	Nukleus Paragigantoselülaris
ODN	Ondansetron
PAG	Periaküaduktal Gri Madde
PBG	1-Phenylbiguanide
PBS	Phosphate buffered saline
PKA	Protein Kinaz A
RVM	Rostral Ventromedial Medulla
s.c.	Subkutan
SG	Substantia Gelatinoza
SP	Substans P
STT	Spinotalamik Yol
TF	Tail-Flick
TFL	Tail-Flick Latency
TNF-α	Tümör Nekroz Faktörü- α
TRPV	Transient Reseptör Potansiyel Vanilloid
VPL	Ventral Posterolateral Nukleus
WDR	Geniş Dinamik Alan

1. GİRİŞ

Ağrı, olası bir doku hasarına karşı vücudu uyarmak için sinyaller üreten sinir sisteminin hayati fonksiyonu ve gerçek ya da potansiyel doku hasarıyla ilişkili hoş olmayan duysal ve duygusal deneyimdir. Ağrı, nosisepsiyon içinde bir algılama olup kişiye ve koşullara göre değişen bir duygulanım şeklidir (1). Nosisepsiyon ise beden bir bölgesinde oluşan doku hasarı bilgisinin, özelleşmiş sinir uçları (nosiseptör) ile merkezi sinir sistemine (MSS) götürülmesi, algılanması ve fizyolojik, biyokimyasal ve psikolojik önlemlerin harekete geçirilmesidir.

Opioidler, akut ve kronik ağrı durumlarını tedavi etmek için etkili analjeziklerdir. Uzun süreli opioid kullanımı analjezik etkisine karşı tolerans gelişmesi gibi yan etkilere neden olur (2). Tolerans, bir ilacın zamanla etkisinde azalma ile sonuçlanan değişimlere adaptasyon durumu olarak tanımlanır. Opioid ilaçların tekrarlı kullanımı, opioid duyarlı nöronların cevabını değiştirmesine neden olan birkaç adaptif ve modülatör mekanizmayı başlatır (3). Opioid agonistlere tolerans gelişmesi, opioid reseptör down regülasyonu, N-metil-D-aspartat (NMDA) reseptör aktivasyonu, nitrit oksit sentaz (NOS) artışı, protein kinaz aktivasyonu, adenilat siklaz (AC) aşırı duyarlılığı, G proteinleri ile opioid reseptörlerin ayrılması ve G proteinlerine bağlı opioid reseptörlerin etkinliğinin değişmesi gibi farklı mekanizmalar aracılığı ile gelişir (4-8). Literatürde, morfin tolerans gelişiminde nörotransmitter ve reseptör arasında çeşitli ilişkiler gösterilmiştir.

Morfin klinikte analjezik olarak kullanılan opioid bir ilaçtır. Bu ilacın öforik etkisinden dolayı uzun süreli kullanımı bağımlılık ve tolerans gelişimine neden olduğu için klinik kullanımı sınırlıdır (9). Morfin tolerans gelişim mekanizmaları arasında serotonin özellikle çok çalışılmış ve bu nörotransmitterin morfinin analjezik etkisinde aracı rol oynadığı gösterilmiştir (10).

Serotonin, (5-hidroksitriptamin, 5-HT), periferik ve MSS'de yaygın olarak bulunan bir monaamindir. Uyku/uyanıklık döngüsü, lokomasyon, termoregülasyon, iştah, ağrı, migren ve cinsel davranış kontrolü 5-HT'nin ana fizyolojik özellikleri arasındadır. Serotonin, akut ve kronik ağrıda modülatör olarak rol oynar (11). Serotonerjik sistemler, inen ağrı inhibitör yolların ana bileşenlerinden biridir (12, 13). Opioid analjezisinde rol alan 5-HT, spinal kordda nosiseptif transmisyonun önemli bir

nöromodülatördür (14). Çeşitli analjeziklerin antinosiseptif aktivitesinin, inen serotonerjik sistemin bütünlüğüne bağlı olduğu görülmektedir. Sistemik ve supraspinal opioid uygulaması, omurilikte 5-HT salınımını uyarır (15). Sistemik morfinin, spinal korda inen serotonerjik sistemin aktivasyonu aracılığıyla ve dorsal boynuzundaki serotonerjik reseptörlere etki ederek nosisepsiyonu modüle ettiği gösterilmiştir. 5-HT reseptörlerinden birkaç alt tipinin, 5-HT'nin antinosiseptif etkisine aracı olduğu gösterilmiştir. Spinal kordda tanımlanan 5-HT reseptörlerinin 7 ailesinin (5-HT₁₋₇) aktivasyonu, periferel, spinal ve supraspinal bölgelerde ağrı sinyali üzerine çeşitli etkiler oluşturur (16). Elektrofizyolojik davranış çalışmaları, spinal 5-HT reseptörlerinin, spinal kordda nosiseptif informasyonun transmisyonda, rafe nukleusundan inen 5-HT yolunun inhibitör etkisine aracılık ettiğini göstermiştir (17).

Morfinin analjezik etkisinde, serotonerjik reseptör alt tiplerinin rolü tartışmalıdır. Morfinin analjezik etkisi üzerine 5-HT reseptör alt tipleri, farklı etkiler gösterir. 5-HT_{3A} reseptörü visseral ağrı ile inflamasyonda rol oynar ve hiperaljezi, tolerans ve bağımlılık gibi kronik morfin analjezinin etkilerine katkı sağlar (18). Ayrıca, 5-HT₃ reseptörlerin, omurilikte nosiseptif sinyal iletimine katıldığına dair birçok bilgi vardır. Bunun dışında, 5-HT₃ etkisinin, opioid tolerans ile nosiseptif sinyali kolaylaştırdığı da gösterilmiştir (19). 5-HT₇ reseptörü, 5-HT reseptör ailesinin son zamanlarda tanımlanan üyesidir. 5-HT₇ reseptörü aktivasyonu, doza bağlı olarak antinosisepsiyona neden olur ve morfinin antinosiseptif etkisini artırır (20). Sistemik morfin kullanımı, spinal kordda inhibitör enkefalinerjik ya da γ -aminobutirik asiterjik (GABAerjik) internöronlar üzerinde lokalize olan 5-HT₇ reseptörlerini aktive eder ve primer afferent liflerin terminaline presinaptik ya da postsinaptik bölgelerde nosisepsiyonu inhibe eden γ -aminobutirik asit (GABA) ve enkefalin salınımını uyarır (21). 5-HT₇ antagonisti, morfin antinosiseptif etkisini inhibe eder (22). 5-HT₇ reseptörü aktivasyonu ise bu etkiyi artırmaktadır (20).

Son bilgiler 5-HT reseptörlerin morfine karşı tolerans gelişiminde etkili olabileceğini göstermiştir. Ancak, 5-HT₃ ve 5-HT₇ reseptörlerin morfin toleransı üzerine etkisine dair şimdiye kadar ayrıntılı bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Bu çalışmada amacımız, serotonin 5-HT₃ ve 5-HT₇ reseptör agonist ve antagonistlerin, morfin analjezisi ve toleransına etkilerini analjezi testleri ve immünohistokimyasal analiz ile araştırmaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. AĞRI

Uluslararası ağrı araştırmaları derneği (IASP) 1996'da ağrıyı, gerçek ya da potansiyel doku hasarı ile ilişkili veya bu hasar ile tanımlanabilen hoş olmayan duyuşal ve duygusal deneyim olarak tanımlamıştır. Ağrı, bireye özgü algılama ve yüksek merkezlerden düzenlenen sinyal sistemleri arasındaki karmaşık etkileşimin sonucudur ve hasarla oluşan fiziksel ve psikolojik cevaplardan meydana gelen hoşa gitmeyen bir deneyimdir. Periferden gelen ağrı mesajları, yüksek merkezler tarafından kontrol edilen merkezi sinir sistemine kompleks bir yol ile iletilir (23).

Ağrı, sadece hoşa gitmeyen bir duygu değil aynı zamanda yaşam için gerekli karmaşık bir duygudur. Doku hasarına neden olan potansiyele sahip uyarının belirlenmesi için sinir sistemi mekanizmasının, doku hasarını önlemek için davranışsal süreçleri başlatması çok önemlidir. Mekanik kuvvet, aşırı sıcaklık, oksijen azalması ve belli kimyasallara maruz kalma gibi doku hasarına neden olan uyarılara karşı refleks reaksiyonu ile cevap verilir (24). Ağrı reaksiyonundan sorumlu sinir devreleri, ağrı sistemi olarak adlandırılabilir. Bu ağrı sistemleri; periferik nöronlar, nosiseptörler, sayısız merkezi nöronal bağlantılar ve omurilik çeşitli seviyelerinde nosiseptif bilgileri düzenleyen bütünleştirici nöron kümeleridir (25).

Ağrının algılanması ilk olarak, zarar verici mekanik, kimyasal ve sıcaklık uyarılarını ileten nosiseptörlerin periferik sonlanmaları üzerinde gerçekteşir. Nosiseptörler, rahatsız edici olan iç veya dış uyarılar hakkında bilgiyi omurilikte yer alan ikinci dereceli nöronlara ve beyin sapına iletir. Nosiseptif sinyaller, daha sonra ağrı sisteminin projeksiyon nöronları tarafından beyin sapındaki entegrasyon yerlerine aktarılır. Duyusal bilgi için birincil entegrasyon bölgesi talamustur, ancak birçok beyin sapı bölgesi ve daha yüksek beyin yapıları ağrıya cevap veren bütünleştirici nöronal devrelere katılmaktadır. Koruyucu somatik ve otonom refleksler, endokrin eylemler, duygusal tepkiler olaylarla ilgili öğrenme ve ağrının kortikal farkındalığını içeren çeşitli koordineli ağrı reaksiyonları üretirler.

Omurilik devresinde ağrı inhibisyonuna, genellikle "endojen analjezi sistemi" olarak adlandırılan inen yollar aracılık eder. Merkezi sensitizasyon veya kolaylaştırma,

ağrı ve ağrı reaksiyonlarından sorumlu olan yollar, periferik nosiseptörler, omurilik, beyin sapı ve yüksek merkezlerde yanıt artışına neden olur. Devredeki pozitif ve negatif değişikliklerin net etkisi, “acı”nın algısal deneyimine yol açar (25).

Ağrı algısı; nörofizyolojik, biyokimyasal, psikolojik, etnokültürel, dinsel, bilişsel, ruhsal ve çevresel etkenlere bağlı değişkenlik gösterir (1). Ağrının meydana geliş biçimi ve oluştuğu dokuya bağlı olarak nosiseptif ve nöropatik olmak üzere iki farklı ağrı tipi vardır. Nosiseptif ağrı, dokulardaki hasar sonucu ortaya çıkan ağrıdır; somatik veya visseral doku kaynaklı olabilir. Nöropatik ağrı ise somatosensoriyel sistemde lezyon veya hastalık sonucu ortaya çıkar. Periferik sinir sistemi tutulmuşsa, periferik nöropatik ağrıdan; spinal kord veya beyin gibi merkezi yapılar tutulmuşsa, santral nöropatik ağrıdan söz edilir. Başlıca nöropatik ağrılı durumlar; diyabetik nöropati, postherpetik nevralji, HIV, alkol, postravmatik veya cerrahi sonrası sinir hasarı sonucu gelişen kronik ağrı ve kanserdir (26). Birçok ağrının ise karışık nosiseptif ve nöropatik etiyojisi vardır (27).

Nosiseptif ağrı, vücudun herhangi bir yerinde inflamasyon veya doku hasarı sonucunda gelişebilir. Hasarlı alanda immün hücrelerden salınan; kalsitonin geni ile ilişkili peptit (CGRP), nörokinin A, histamin, bradikinin, substans P (SP) ve prostaglandin gibi pek çok algojenik madde, periferik nosiseptörleri uyararak spinal korda ağrı impulslarının iletilmesine neden olur. Ayrıca, ortama salınan bu kimyasal mediyatörler, kapiller permeabiliteyi etkileyip vazodilatasyona neden olarak, dokuda ödem ve hassasiyete yol açar. Sık karşılaşılan nosiseptif ağrılı durumlar başlıca, kas-iskelet sistemi bozuklukları, malignite durumları ve post-travmatik patolojilerdir (28).

Ağrı, akut ve kronik ağrı olarak da ikiye ayrılır. Akut ağrı; travma, cerrahi veya doku hasarı sonrası oluşan, analjezik ilaçlarla kontrol altına alınabilen, iyileşme süreci sonunda kaybolan bir bulgudur. Dolayısıyla, akut ağrı koruyucu fonksiyonu nedeniyle canlı için yararlı bir biyolojik uyarandır. Kronik ağrı ise genellikle üç aydan uzun bir süredir var olan, iyileşme sürecinden bağımsız, beraberinde affektif, bilişsel ve motivasyonel bozuklukların da eşlik ettiği, fonksiyonel azalma ve yaşam kalitesinde bozulmaya yol açan, multimodal tedavi gerektiren bir maladaptif süreç veya bir hastalıktır (29).

Ağrı duyusu oluşturan faktörler (24):

1. Sinirlerin inflamasyonu (temporal nörit vb.)
2. Sinir hasarı ve sinir uçlarında skar oluşumu (cerrahi operasyon veya disk sarkması vb.)
3. Kanser (brakial pleksopati vb.)
4. Ağrı bilgisinin işlendiği spinal kord, talamus ya da kortikal bölgelerde oluşan hasar (spinal travma vb.)
5. Ağrı duyusu olarak algılanan sinir çevresinde anormal aktivite (fantom ağrısı vb.)

2.1.2. Ağrı Reseptörleri ve Primer Afferentler

Ağrılı uyarılar, nosiseptörler olarak bilinen birincil afferent duyuşal nöronların özelleşmiş uçlarında meydana gelir. Nosiseptörler, dokuda spesifik ağrılı bir uyarı tarafından aktive edilen reseptörlerdir. Ağrılı uyarı bilgisi, bu reseptörler tarafından elektriksel sinyale dönüştürülür ve akson boyunca periferden merkezi sinir sistemine (MSS) iletilir (23). Zararlı inputların alımı cildin, kasların (30), eklemlerin (31), iç organların (32) ve duranın (33) fonksiyonel olarak özelleşmiş serbest sinir uçlarında meydana gelir.

Nosiseptif sonlanmalar, ayrıca kan damarlarının fasyası ve adventisyasında da yer almaktadır (34). Glutamat reseptörleri, mu (μ) ve delta (δ) opiatlar, SP, somatostatin ve vanilloid reseptörleri derideki sinir liflerinin periferik uçlarında immünohistokimyasal olarak tanımlanmıştır (35).

Nosiseptörler, beyinde ağrı duyusunun yorumlandığı ve sinir impulslarının çeşitli uyarılara dönüştürüldüğü serbest sinir uçlarıdır. Nosiseptörlerin sınıflaması, terminal uç kısmının sınıflandırılmasına dayanır. 2 tip sinir lifi vardır. 1. Küçük çaplı, sinir impuls iletimi yavaş, miyelinsiz C tipi lifler 2. Büyük çaplı, sinir impuls iletimi hızlı, hafif miyelinli A δ tipi lifler (23) (Tablo 1).

Tablo 1. Afferent liflerin karakteristik özellikleri

Lif tipi	Aδ (Miyelinli)	C (Miyelinsiz)
Lif çapı	2-5 µm	<2 µm
İletim hızı	5-15 m/sn	0.5-2 m/sn
Dağılımı (yayılımı)	Vücut yüzeyi, kaslar, eklemler	Birçok doku
Ağrı duyusu	Hızlı, delici, lokalize	Yavaş, yaygın, donuk, ağrılı
Spinal kord dorsal boynuzdaki sinaps pozisyonu	Lamina I ve V	Lamina II (substantia gelatinosa)

C tipi nosiseptör lifler, termal, mekanik ve kimyasal uyarılara cevap veren polimodal liflerdir. Aδ tipi nosiseptörler, mekanik ve mekanotermal uyarılara cevap verir. Bu iki sinir lifi tipinde, sinir impulslarının yayılma hızları farklıdır. Nöronal impulsları hızlı ileten Aδ tipi lifler, keskin, hızlı ağrı duyusu oluştururken, daha yavaş C tipi nosiseptör lifler gecikmeli, donuk ağrı duyusu üretirler (24).

Afferent lifler periferden köken alan, büyük çaplı, miyelinli, vibrasyon ve hafif dokunma gibi ağrısız uyarılara cevap veren, lateral yolda iletilen, Aβ liflerinden oluşur. Aβ ve C lifleri omuriliğe girdikten sonra sinir kökleri bir ya da iki dorsal boynuz segmentine girebilen inen ve çıkan dallara ayrılır (23).

Aβ lifleri, temel olarak vibrasyon, hareket veya hafif dokunma gibi nosiseptif olmayan girdilerin iletilmesinde rol oynar. Aβ lifleri, hızlı iletimli büyük miyelinli liflerdir (35-75 m/sn). Nosiseptif olmayan sinyalin iletilmesinin yanı sıra, Aβ liflerinin uyarılması, aynı spinal segmentte nosiseptif girişi inhibe eden, spinal kordun dorsal boynuzunun substantia gelatinosunda inhibe edici internöronları uyarır. Bu mekanizma, kapı kontrol teorisinin temel bileşenlerinden biridir (36). Aβ lifleri, nosiseptif girdi üzerinde tonik bir engelleyici olarak rol oynamaktadır. Girdinin bu büyük liflerden bloke edilmesi, nosiseptif uyarılara karşı artan bir cevapla sonuçlanır (37).

Nosiseptörler heterojendir ve beş kategoride sınıflandırılır (38):

1. Cilde uygulanan ağrılı mekanik uyarılara cevap veren, “yüksek eşikli” mekanoreseptörler
2. Ağrılı termal, mekanik ve kimyasallara cevap veren “polimodal” nosiseptörler
3. Zararlı mekanik ve ısıya cevap veren “mekanotermal” nosiseptörler

4. Zararlı düşük sıcaklığa ve mekanik uyarılara cevap veren “mekanik soğuk” nosiseptörler
5. İltihaplı eklem kapsülünden köken alan, lokal inflamasyon ile (veya histamin) duyarlı hale getirildiğinde, yalnızca mekanik uyarılarla uyarılabildiği ortaya çıkan "sessiz" nosiseptörler

2.1.3. Nosisepsiyon

Nosisepsiyon, gerçek veya potansiyel doku hasarı ile ilgili sinirsel bilgilerin, ağrı duyusu olarak algılanan yüksek beyin merkezlerine iletiildiği, dönüştürüldüğü, kodlandığı ve belirlendiğı bir süreçtir. Nosisepsiyon terimi, latince “nocere” kelimesinden türetilmiştir ve “yaralanmak” anlamına gelir. Nosiseptör, aslen 1932'de Nobel ödüllü Charles Sherrington (1906) tarafından önerilen nosisepsiyon kavramına dayanır. Charles Sherrington, dokunun bozulmasına neden olan ya da bütünlüğüne fiziksel bir tehdit teşkil eden olayların, tabiatlarına bakılmaksızın, zararlı olarak nitelendirilebileceğini öne sürmüştür (39).

Nosisepsiyon, zararlı bir uyarının ağrı yolağı ile transdüksiyon ve transmisyonuna neden olan nöral bir süreçtir (23). Ayrıca, vücudun bir bölgesindeki doku yaralanmasında uyarının özelleşmiş sinir uçları ile (nosiseptör) alınıp merkezi sinir sistemine götürülmesi, belirli bölgelerde ve nöral yapılarda entegre edilmesi, bu zararlı tehdidin algılanması, buna karşı fizyolojik, biyolojik ve psikolojik önlemlerin harekete geçirilmesidir. Nosisepsiyon, doku hasarı ile ağrının algılanması arasında oluşan karmaşık elektrokimyasal olayların bir bütünüdür. Ağrı, nosisepsiyon içinde bir algılama olaydır; travmatik veya ağırlı stimulusa verilen nöral cevaptır. Nosiseptörlerden gelen tüm uyarılar ağrı oluşturur, fakat tüm ağrılar nosisepsiyondan kaynaklanmaz (40).

Ağırlı duysal uyarının beyni uyardığı nosisepsiyonu ileten sinir yolağı, ağırlı olmayan duysal uyarın bilgisinin beyne iletiildiğı sinir yolağından ayrılır. Nosiseptörlerin sinir hücre gövdeleri dorsal kök gangliyonda ya da trigeminal gangliyonda bulunur. Bu sinirler bir dalını periferde diğeri dalını spinal kord ya da beyin sapına gönderir (24).

Nosiseptif primer afferent sonlanmalar, sinaptik transmisyon ve nosiseptif bilgi aktarımı için küçük, yuvarlak ve berrak glutamat vezikülleri içerir (41). Diğeri büyük, glomerüler tipte afferent sonlanmaların ise tipik olarak, büyük ve yoğun çekirdekli peptid içeren vezikülleri bulunur. Primer afferent nosiseptörlerin, primer nörotransmitteri glutamattır. Etkisi, terminal uçlarda birlikte salınan nöropeptitler ve aktivasyon

molekülleri tarafından modüle edilir. CGRP, SP, nörokinin A, galanin, somatostatin, VIP ve kolesistokinin (CCK) periferik olarak nörojenik modülasyon ve inflamasyona neden olarak, omurilikte nosisepsiyonda spesifik modülatör rol oynar (42). Afferent sinir uçları, ayrıca tümör nekroz faktörü-alfa (TNF- α), interlökin-1 (IL-1) ve interlökin-6 (IL-6) gibi inflamatuvar medyatörler tarafından da aktive edilir (43). Diğer aktivatörler, küçük molekülü adenosin, adenosin trifosfat (ATP), nitrik oksit (NO) ve diğer reaktif oksijen türlerini içerir. Bütün bu maddeler terminal bölgelerde, dorsal kök gangliyonda (DKG) ve dorsal boynuzda tanımlanmıştır (44). Nosiseptörlerin periferik aktivasyonu, hücrel bir hasardan sonra üretilen ya da salınan birçok kimyasal madde ile modüle edilir (40) (Tablo 2).

Tablo 2. Doku hasarına neden olan uyaranlar ile salınan kimyasal maddeler

Madde	Kaynak	Sinir Sonundaki Etkileri
Substans P	Sinir terminalleri	Sensitizasyon
Bradikinin	Plazma kininojen	Aktivasyon
Serotonin	Trombositler	Aktivasyon
Histamin	Trombositler, mast hücresi	Aktivasyon
Protonlar (düşük pH)	İskemi, zedelenmiş hücreler	Aktivasyon
Prostaglandinler	Araşidonik asit, zedelenmiş hücreler	Sensitizasyon
Lökotrienler	Araşidonik asit, zedelenmiş hücreler	Sensitizasyon
İnterlökinler	Mast hücreleri	Aktivasyon ve sensitizasyon
TNF-α	Mast hücreleri	Aktivasyon ve sensitizasyon

Medyatörler sinir aktivite derecesini etkiler ve bu yüzden şiddetli ağrı duyusu oluşur. Tekrarlı uyaranlar, ağrı eşinin düşmesine ve spontan ağrıya sebep olan periferik sinir liflerinin sensitizasyonuna yol açar. Örneğin, deride güneş yanığı oluşması cilt hassasiyetine neden olur. Ayrıca, SP gibi lokal salınan kimyasallar ve mast hücrelerinden salınan histamin vazodilatasyona sebep olur ve ödem meydana gelir. Bu kompleks kimyasal sinyal mekanik ya da diğer uyaranlardan bu bölgeyi uzak tutan davranışlar üreterek hasarlı alanı korur. “Ağrının koruyucu fonksiyonu” ile kan akımı artışı ve inflamasyon meydana gelmesi ile enfeksiyona karşı korumaya ve iyileşmeye teşvik edilir (24).

Hipersensitivitenin belirli durumlarda ayrımı yapılır:

- a) **Allodini:** Ağrıya neden olmayan bir uyarının ağrı oluşturmaması
- b) **Disestezi:** Spontan ya da uyarılmış anormal hoş gitmeyen duyu
- c) **Hiperaleji:** Normal ağrılı bir uyarana cevabın artması
- d) **Hiperestezi:** Özel duylar hariç, uyarılara hassasiyetin artması

Nörokimyasal olarak, nosiseptörler peptiderjik ve non-peptiderjik iki alt popülasyona ayrılır. Peptiderjik Tip 1 C lifleri CGRP ve SP gibi peptidler içerir. Bu liflerden salgılanan peptidler, periferik sinirde veya çevrede istirahat halinde bulunan mast hücrelerini aktive ederek bu hücrelerden histamin salgılanmasına yol açar. Vazoaktif bir peptid olan histamin, lezyon bölgesinde kızarıklık, ödem ve deride hiperaleji gibi lokal inflamasyon belirtilerine neden olur. Tip 2 C lifleri ise, SP veya CGRP gibi peptidler taşımadıkları için, non-peptiderjik C lifleri adını alır. Peptiderjik nosiseptörler, merkezi terminallerini lamina I'e yansıtırken, non-peptiderjik nosiseptörler, merkezi terminallerini, spinal dorsal boynuz lamina II'nin iç kısmına yansıtır (45).

1997'de, transient potansiyel vanilloid reseptörü 1'in (TRPV1) ilk klonlanmasından bu yana termal nosisepsiyonun hücresel ve moleküler mekanizmaları kademeli olarak çözülmüştür (45). Kapsaisin reseptörü olarak da bilinen, yüksek Ca^{+2} geçirgenliğine sahip non-selektif bir katyon kanalı olan TRPV1, termal nosisepsiyon sensörü olarak önerilen ilk moleküldür. TRPV1, kapsaisin ('acı' biber içindeki ana etken madde), zararlı ısı (>42 °C) ve proton ile aktive edilir. TRPV1'i şifreleyen genler, Aδ ve C liflerini ve trigeminal gangliyonları innerve eden primer duyuşal nöronlarda fazla miktarda eksprese edilir. Bir başka tanımlanmış termal nosiseptör olan TRPV2, 52 °C'den yüksek sıcaklıkta aktivite olur ve kapsaisine duyarlı değildir. Soğuk ve mekanik nosisepsiyon altında yatan, hücresel ve moleküler mekanizmalar, termal nosisepsiyon için bilinenler kadar net değildir. TRPA1 ve TRPM8'in soğuk nosiseptör kanalı olduğuna inanılırken, TRPV1, purinerjik reseptörler (P2X3 ve P2Y1) ve asit duyarlı iyon kanalları kimyasal nosiseptör kanallarıdır. Bazı voltaj kapılı sodyum kanallarının alt tipleri (Nav1.7, Nav1.8, Nav1.9 vb.), voltaj kapılı kalsiyum kanalları (N tipi, P / Q tipi vb.) ve voltaj kapılı potasyum kanalları ve iki por domainli potasyum kanalları (TRAAK, TREK1/2 vb.) bir transdüser ve nosisepsiyon kodlayıcı kanal olarak önerilmektedir (46).

2.1.4. Ağrının Algılanması

Periferde bulunan ağrıya hassas nosiseptörlerin aktivasyonu veya hasar görmüş dokudan salınan mediyatörler tarafından medulla spinalise afferent transmisyon ile dorsal boynuz üzerinden yüksek merkezlere ileti aşamaları ile ağrı algılanması gerçekleşir (47).

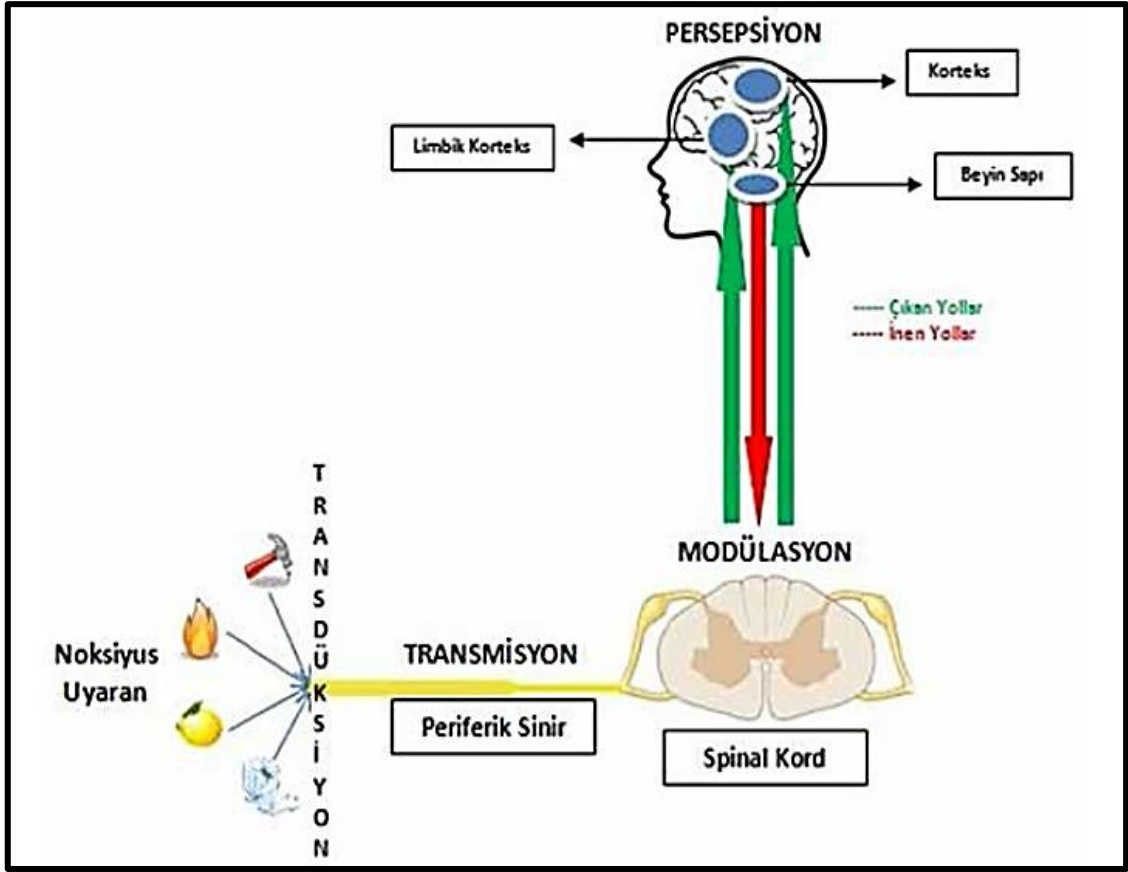
Ağrı 4 aşamada algılanır;

1. **Transdüksiyon:** Sinirlerin sensoryal uçlarında, eşik değeri aşan çeşitli uyarıların (termal, mekanik, kimyasal vb.) elektriksel aktiviteye dönüştürüldüğü aşamadır.
2. **Transmisyon:** İmpulsların nöral yolaklar aracılığıyla üst merkezlere iletilmesi olayıdır.

Bu yolaklar üç gruba ayrılır;

- I. Primer sensoryal afferent nöronların, elektriksel aktiviteyi spinal korda iletmesi
 - II. Uyarının spinal kordda, çıkan ileti sistemi ile beyin sapı ve talamusa iletilmesi
 - III. Talamokortikal projeksiyon
3. **Modülasyon:** Nosiseptif transmisyonun inen yolaklar aracılığıyla spinal kord seviyesinde modifiye olmasıdır. Burada ileti zayıflatılabilir veya güçlendirilebilir.
 4. **Persepsiyon:** Üst merkezlere iletilmiş uyarının algılanması aşamasıdır. Bireyin psikolojisi ile etkileşimi ve subjektif emosyonel deneyimleri sonucu gelişen, uyarının algılandığı son aşamadır (Şekil 1).

Spinal veya belirli kranyal sinirlerdeki C lifleri veya A δ liflerindeki elektriksel impulslar spinal kord veya beyin sapına gider. Bir seri kompleks kimyasal etkileşimler ile sinaptik bileşkeyi geçtikten sonra, sinyal nosiseptif spesifik yüksek MSS seviyelerine elektriksel olarak geçer ya da ağrıya daha az spesifik geniş dinamik alan (wide dynamic range, WDR) nöronlarına gider (48).



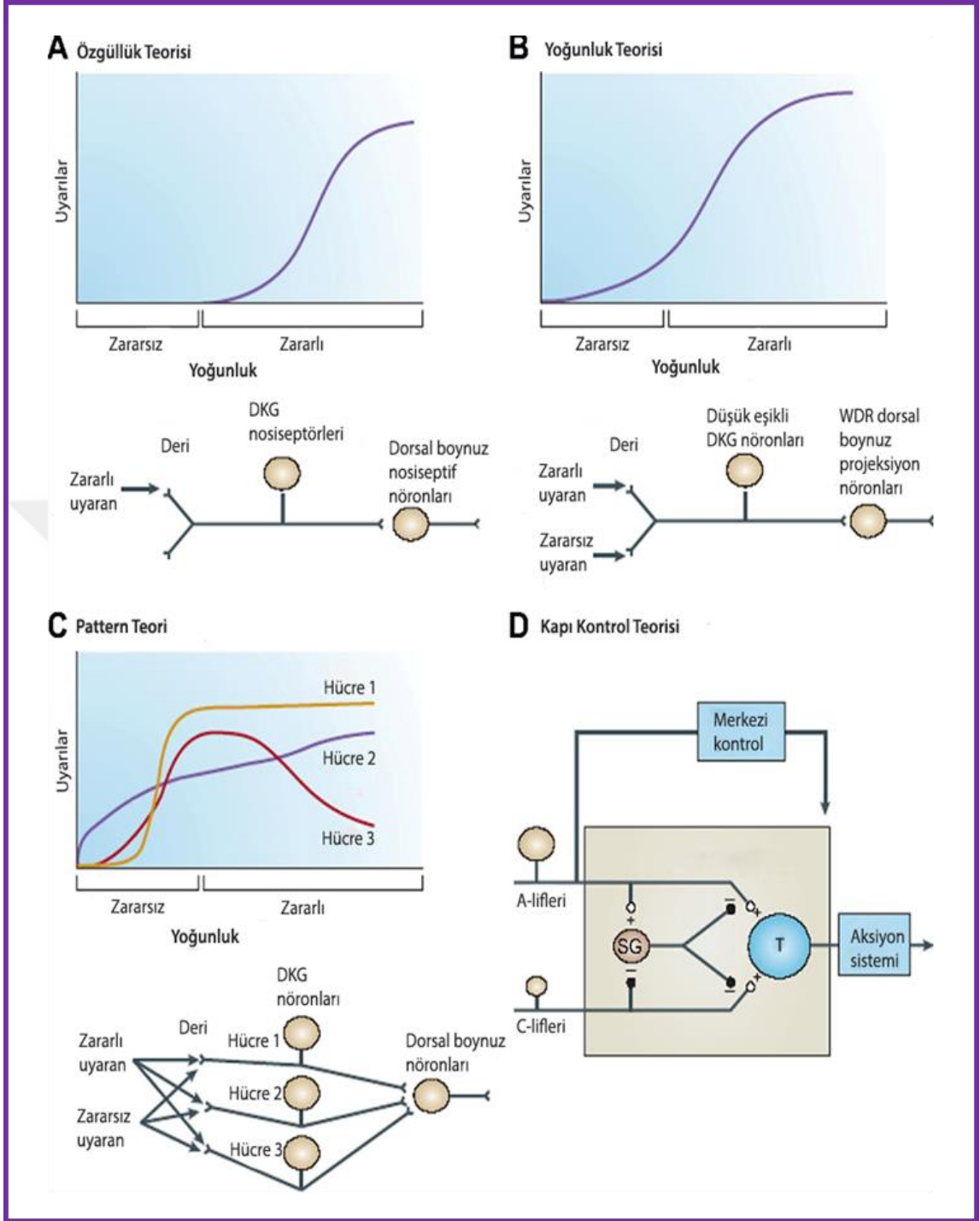
Şekil 1. Nosisepsiyon aşamaları (27). Ağrı; transdüksiyon, transmisyon, modülasyon ve persepsiyon olmak üzere dört aşamada algılanır. Transdüksiyon; nosiseptörlerde ağrılı uyarının elektriksel aktiviteye dönüştürüldüğü aşamadır. Transmisyon; nosiseptif impulsun sinir sistemi boyunca iletilmesidir. Modülasyon; nosiseptif transmisyonun nöral etkenlerle modifiye olmasıdır. Persepsiyon ise uyarının algılandığı son aşamadır.

2.1.5. Ağrı Teorileri

Ağrı gelişim mekanizmalarının aydınlatılması için birçok teori ileri sürülmüştür. Bu teorilerden başlıcaları şunlardır (38, 46):

1. **Özgüllük teorisi:** Özgüllük teorisi tarihte en etkili ağrı teorilerinden biridir. Bu teoriye göre, dokunma ve ağrı uyarınları ayrı yollardadır ve özelleşmiş duyu organları nosiseptörler tarafından kodlanır. Nosiseptörlerin daha güçlü ağrılı uyarınlarla aktivitesi artar. Bu özel periferik afferent nöronların belirli spinal ve beyin sapı projeksiyon nöronları ile seçici bağlantıları vardır. Her bir modalite için impulslar, beyindeki dokunma ve ağrı merkezlerine projekte olan farklı yollarla iletilir (Şekil 2A).

2. **Yoğunluk teorisi:** Bu teori, periferel duyu organlarının düşük veya yüksek eşikli olarak ayrılmadığını varsaymaktadır. Aksine, nöronlardaki impuls sayısı, uyarının şiddetini belirler. Afferent liflerin, belirli bir aktivite seviyesi üreterek zararsız uyarıları (deri basıncı gibi) ilettiğini, ancak zararlı uyarıların ise daha büyük bir akımla iletildiğini söyler. Şiddeti kodlayan primer afferent lifler, omuriliğin dorsal boynundaki WDR projeksiyon nöronlarını aktive eder. WDR projeksiyon nöronlarının zayıf aktivasyonları, zararsız uyarıları kodlar, güçlü aktivasyonu ise ağırlı uyarıları kodlar (Şekil 2B).
3. **Patern teorisi:** Ağrının patern teorisi, somatik duyu organlarının geniş bir cevap aralığına sahip olduğunu önermektedir. Farklı duyu organları uyarılara karşı farklı duyarlılık seviyelerine sahiptir. Stimulasyonun modu ve odağı, belirli bir vücut bölgesinden gelen liflerin bileşik aktivitesi ile gösterilir. İmpuls spinal korda girdikten sonra, ağrı duyusunun başlaması için uyarının birikmesi gerekir. Santral projeksiyon nöronları, uyarıların yapısını ve yerini, deşarjların şekli ve dağılımına göre kodlar (Şekil 2C).
4. **Kapı kontrol teorisi:** Bu teori, ilk sinaptik iletinin primer afferentler ile spinal dorsal boynuzun lamina II'deki (substantia gelatinosa, SG) transmisyon hücresi (ağrı sinyal nöronları) arasında, bir 'geçit' olduğunu öne sürmektedir. Primer afferent ve projeksiyon nöronları arasındaki substantia jelatinosadaki presinaptik geçit, A β ve C lifleri arasındaki aktivite dengesi ile kontrol edilir. SG hücrelerinin, transmisyon hücrelerinde primer afferent lif terminallerine uygulanan inhibitör etki, A β lif aktivitesi ile artar ve C lif aktivitesi ile azalır. SG hücrelerinin uyarılması, transmisyon hücrelerinin frenleyici etkisini artırmakta, inhibe edilmesi ise transmisyon hücrelerini uyarmaktadır. Kalın A β lifler, SG hücrelerini uyararak iletimi inhibe etmekte (kapıyı kapatmakta), ince lifler (A δ ve C) ise SG hücrelerini inhibe ederek iletimi kolaylaştırmaktadır (kapıyı açmakta). C lif girişi, A β liflerinden daha ağır basarsa, kapı açılır ve projeksiyon nöronlarının aktivasyonuna izin verilir. MSS mekanizmalarının, inen kontrol geçidi modüle etmesi öngörülmektedir (Şekil 4D).



Şekil 2. Ağrı teorileri (38). **A.** Özgüllük teorisi **B.** Yoğunluk teorisi **C.** Pattern teori **D.** Kapı kontrol teorisi (DKG, dorsal kök gangliyonu; SG, substantia gelatinosa; T, transmisyon; WDR, geniş dinamik alan).

2.1.6. Ağrı Mekanizmaları

Sekonder hiperaljezi, MSS içerisinde sensitizasyonu meydana getiren bir olgudur (49). Bir hasarı takiben C liflerinin tekrarlı uyarımı, sekonder nöronların membranlarının cevabını değiştirerek merkezi sensitizasyona neden olur. Tekrarlı uyaran artışı veya tonik stimülasyon ile C liflerinin yüksek frekansta uyarımı (50), stimülasyon şiddeti sabit kalsa bile algılanan ağrıda bir artışa neden olacaktır. Bu spinal sensitizasyon dakikalar, saatler ve hatta günlerce devam edebilir. N-metil-D-aspartik asit (NMDA) reseptörlerinin uzun süreli aktivasyonu, hızlı şekilde eksprese edilen genlerin (c-fos, c-jun) transkripsiyonunu uyarır ve nosiseptörlerin sensitizasyonuna neden olur (51).

Temporal sumasyon, A δ ve C liflerinde sinyal iletiminde önemlidir. C liflerinin yavaş iletimi ile yüksek frekanstaki stimülasyonlar, bu liflerde temporal sumasyonu oluşturur. Temporal sumasyon, A δ lifleriyle ilgili ilk ağrı algısını değiştirmeden, C lif aktivitesiyle ilgili olan ikinci ağrının algılanan yoğunluğunda bir artışla sonuçlanır. Nosiseptif aktivite artışı, santral sensitizasyona neden olan omurilik ikinci nöronunun uyarılabilirliğinde geçici bir değişiklik üretir (52).

MSS'deki bir diğer önemli fenomen, spasyal sumasyondur. Büyük bir bölgenin uyarılması, daha küçük bir alanın uyarılmasından daha fazla nosiseptör toplayarak daha şiddetli ağrı algılamasına neden olacaktır. Hem uyarıcı hem de inhibe edici mekanizmaların uyardığı yüzey alanında artış meydana gelir (53).

2.1.7. Spinal Kord

A δ ve C lifleri sinyallerini omuriliğe taşıdığında, burada ilk olarak dorsal boynuzda ikinci sıra nöronlarla sinaps yapar (54). Omuriliğe gelen hem nosiseptif hem de nosiseptif olmayan afferentler, ikinci sıra nöronlarla üst merkezlere projekte olmadan önce nosiseptif sinyali modüle eden inhibitör ve eksitatör internöron ağı ile sinapstik bağlantı kurar (49).

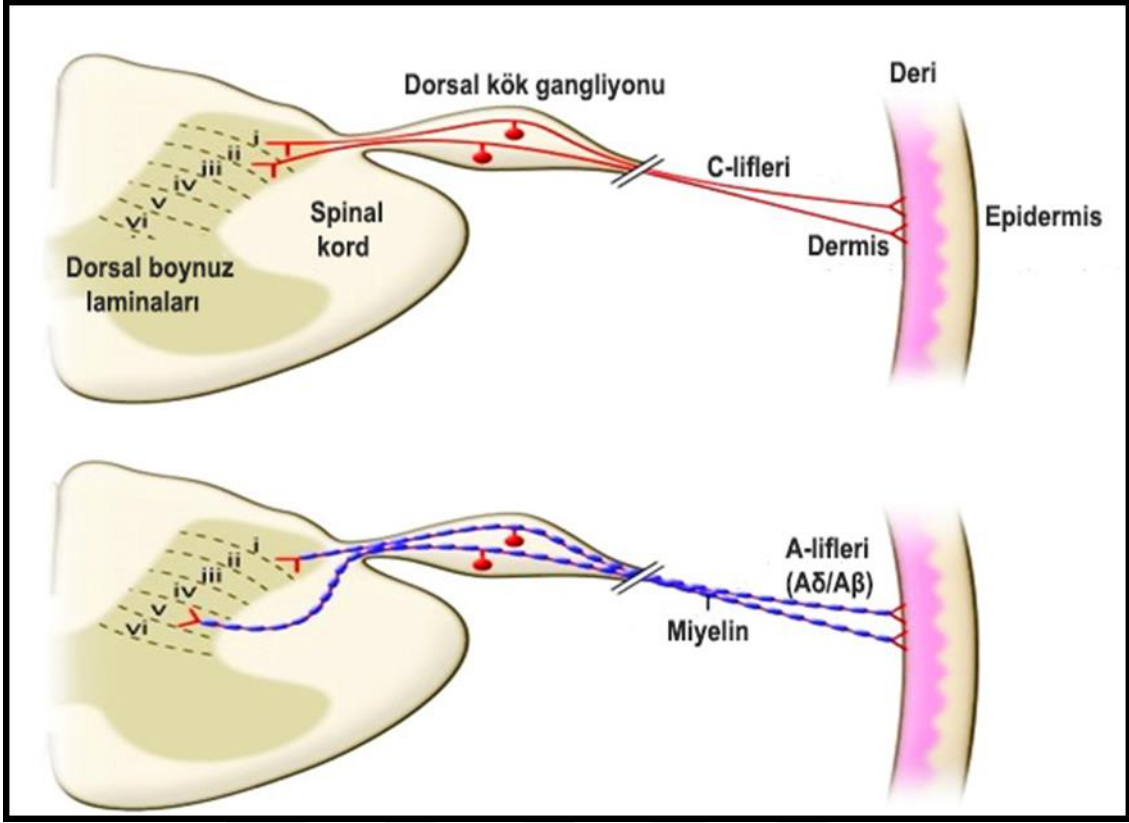
Sekonder nöronlar iki sınıfa ayrılır: Nosiseptif spesifik nöronlar ve WDR nöronlar (49). Nosiseptif spesifik nöronlar, sadece nosiseptif stimülasyona cevap verir. A δ ya da A δ ve C liflerinin kombinasyonu ile uyarıları iletmesine bağlı olarak iki alt sınıfa ayrılır (51). WDR nöronlar, zararsız uyarandan nosiseptif uyarana değişen stimüslara kademeli olarak yanıt verir. Hem zararsız hem de nosiseptif uyarılara cevap verme kapasiteleri, A δ , C ve ayrıca A β liflerinden bilgi almaları ile ilgilidir. WDR nöronların

reseptif alanındaki değişiklikler, iyon membran geçirgenliği ve nöronların değarj frekansı ağrının kronikleşmesinde önemli bir rol oynar (55).

Primer afferent lifler tarafından iletilen ağrılı uyarılar, omuriliğin dorsal boynuzundaki nöronlar tarafından alınır. Dorsal boynuz, hem lokal internronları hem de beyindeki daha yüksek işlem merkezlerine bilgi sağlayan projeksiyon nöronlarını içerir (25). Omuriliğin çekirdeğindeki gri madde, duyuşal bilginin işlenmesi ve entegrasyonunun ilk aşamasını oluşturan sinaptik sonlanmaların ve hücrelerin matriksidir. Gri madde, Rexed (56) tarafından topografik olarak 10 laminaya ayrılmıştır (Lamina I-X) (25).

Dış marjinal tabaka veya lamina I, kordun uzunluğu boyunca uzunlamasına yerleştirilmiş hücrelerin dendrit ağlarını içerir. Hücrelerin çoğu internronlardır, fakat beyin sapı, talamus ve hipotalamusa aksonal projeksiyon yapan lamina I hücreleri de bulunur (57). Lamina II, veya temel olarak SG, projeksiyon nöronlarını modüle eden hem eksitatör hem de inhibitör internöronlar içerir. Lamina II internronları, glutamat ve ę-aminobutirik asit (GABA) gibi eksitatör veya inhibitör nörotransmitterler sentezler (58). Lamina III ve IV, mekanik dokunma ve visseral nosiseptif bilgiyi ileten, spinoservikal ve postsinaptik dorsal kolon yollarının büyük projeksiyon nöronlarını ve internronları içerir. Derin lamina IV ve VI'da, nosiseptif bilgiyi beyin sapı, talamus ve hipotalamusa ileten projeksiyon nöronları ve internöronlar bulunur. Bu hücrelerin projeksiyonları spinoretiküler, spinotalamik ve spinohipotamik yolları oluşturur (59). Lamina X ve bitişik laminalar III, IV, V, VII ve VIII otonomik işlem alanıdır. Bu bölge, vücut çekirdeğindeki visseral ve somatik ağrı hakkında bilgi ileten ikinci sıra projeksiyon nöronlarını da içerir (60).

Nosiseptif bilgi taşıyan birincil afferent liflerin çoğu, omuriliğin sperfişiyal dorsal boynuz lamina I ve II'yi innerve eder (şekil 3). Somatik C lif afferent uçları, omurilikte, esas olarak lamina I ve II'de sonlanır. Visseral C lifleri ise, ipsilateral lamina I, II, V ve X ve kontralateral V ve X laminalarında geniş lde dağılır (61). Ađ mekanik nosiseptörler, ipsilateral lamina I, V ve X'da ve kontralateral olarak dorsal boynuzda sonlanır. Ağrılı kutanöz girdi, lamina I, IV ve V projeksiyon nöronları tarafından, talamus ventral posterolateral nukleusa (VPL) ve posterior talamusa giden, çapraz spinotalamik yola iletilir (62).

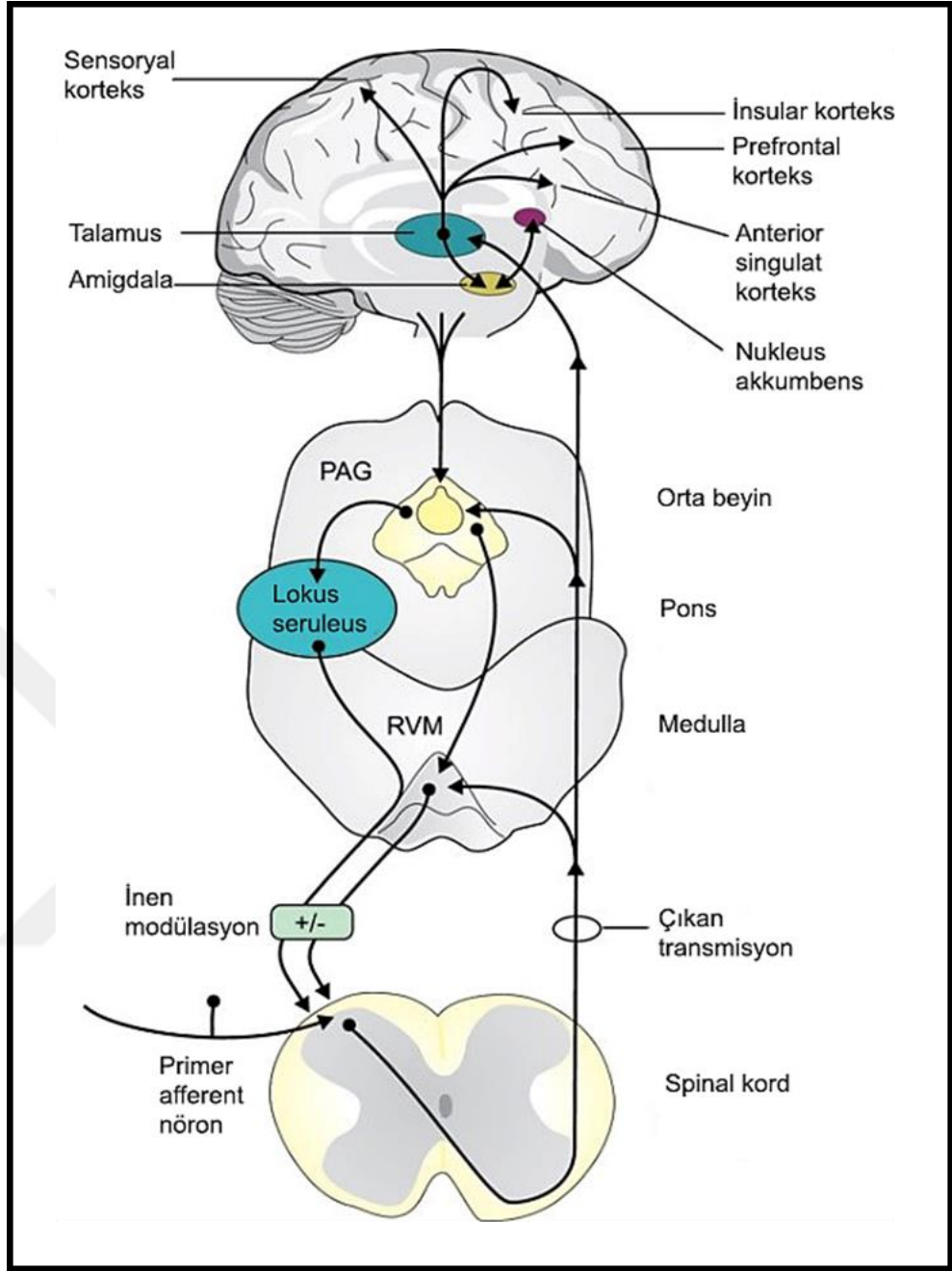


Şekil 3. Nosiseptörlerin spinal kordda anatomik gösterimi (63). Somatosensör sinir hücreleri, spinal kolon ve medulla boyunca yer alan periferik gangliyonlarda bulunur. Nosiseptörlerin çoğu küçük çaplı, miyelinsiz (C-lifleri, kırmızı) aksonlardır. Periferik afferentler deriyi uyarır (dermis ve/veya epidermis) ve dorsal boynuz yüzeysel lamina I ve II'e yansır. A-lif nosiseptörler miyelindir ve yüzeysel lamina I ve V'e projekte olur (mavi).

2.2. AĞRI YOLAKLARI

2.2.1. Santral Çıkan Yollar

Omurilikteki nosiseptif transmisyon nöronları, beyindeki dorsal kolon çekirdeği, dorsal ve ventral medüler retiküler formasyon, dorsolateral pontin lokus seruleus/ parabrakial bölge, orta beyin periakuaduktal gri madde (PAG), medial ve lateral talamus bölgesi, anterior pretektal nukleus, hipotalamus ve amigdala bölgesi de dahil olmak üzere, beyindeki birçok duyu işleme bölgesine aksonal lif projeksiyonları gönderir (64) (Şekil 4).



Şekil 4. Ağrı sinyallerinin iletimi ve modülasyonunda rol oynayan yollar (65). Primer afferent nöronlar, omuriliğin dorsal boynundaki sekonder nöronlarla sinaps kurar. İkinci sıra nöronların aksonları orta hattı geçip, talamusa, rostral ventromedial medulla (RVM) ve periaqueductal gri madde (PAG) dahil medulla oblongata, pons ve orta beynin çeşitli bölgelerine projekte olur. Üçüncü sıra nöronlar, ağrının duyuşal-ayırt edici yönlerinden (şiddet, lokasyon ve nitelik) sorumlu olan somatosensoryal kortekse ve anterior singulat, insular gibi limbik kortikal alanlara ve ağrının duygusal bileşenlerini içeren prefrontal kortekse projekte olur. Talamik nöronlar ayrıca, hem ağrı hem de ödül-motivasyon davranışına aracılık eden nukleus akkumbens ile etkileşime giren amigdalaya yansır. Çeşitli beyin bölgeleri, RVM'deki rafe nukleus aracılığıyla inen ağrı modülasyon projeksiyonları gönderen PAG'a ve lokus seruleusa lif gönderir (PAG, periaqueductal gri madde; RVM, rostral ventromedial medulla)

Birbirine paralel medial ve lateral ağrı yolları tanımlanmıştır. Lateral ağrı yolağı spinotalamik yol (STT), lateral talamus ve daha sonra birincil (SI) ve ikincil (SII) somatosensoryel kortekslere ağırlı uyarının lokasyonu, niteliğı ve şiddeti hakkında ayırt edici bilgiyi iletir. Medial ağrı sistemi, ağrı oluşumuna duygusal, motivasyonel ve otonomik tepkileri aktive etmek için, ön singulat korteks dahil, limbik yapılarla etkileşime giren orta hat beyin sapı, hipotalamus, amigdala, medial ve intralaminar talamusa nosiseptif bilgiyi iletir. Medial ağrı yolakları, spinoamigdalar, spinohipotalamik, medial spinotalamik ve spinoretiküler yolakları içerir ve ön singulat, prefrontal ve insular limbik kortekslerle bağlantıları bulunur [65].

2.2.1.1. Spinotalamik Yol

STT nöronları, duyuusal bilgi için büyük bir entegrasyon bölgesi olan talamusa spinal korddan nosiseptif bilgi sağlayan primer röle hücreleridir. Aynı vücut bölgesinden gelen dokunsal bilgiler, aynı talamik nöronlara konverje olur. Lateral talamusta bu bilgi alımı, spesifik vücut bölgesinin kortikal gösterimi üzerine, bilginin spesifik lokalizasyonu için somatotopik kodlama sağlar. Bu, nosiseptif bilginin kökeninin tam olarak belirlenmesini sağlar. Ağırlı kutanöz ve sıcaklık girişi alan STT hücreleri, büyük oranda lamina I'de yer alır ve lamina IV ve V dorsal boynuz nöronlarında da bulunur (62). Diğer STT nöronları derin dorsal boynuz ve ara bölge (lamina X) boyunca ve ventral boynuzun lamina VII'sinde yayılır. Derin laminalardaki STT hücrelerinin çoğı, hem kutanöz hem de visseral nosiseptif bilgi alırlar (66).

STT hücrelerinin aksonları, spinal orta hat boyunca karşıya geçer ve beyaz maddenin anterolateral ya da ventrolateral kısmında medulla ve ponsdan geçerek yukarı çıkar. STT hücrelerinin aksonları, posterior ventrobazal talamik komplekste lateral olarak veya medial ve intralaminar talamusta medial olarak sonlanır. Lamina I STT nöronları, talamusun ventral posteriyor ve medial dorsal nukleusunun yanısıra, talamusun ventral medial nukleusunun posterior kısmında sonlanması için orta lateral funikulusa aksonal projeksiyonlar gönderir (67).

2.2.1.2. Postsinaptik Dorsal Kolon Yolu

Omurilik dorsal kolonu, postsinaptik dorsal kolon nöronlarının ve ayrıca dokunma, basınç ve titreşim duyunu ileten birincil afferent nöronların, ilk sıra çıkan aksonlarını içerir. İkinci sıra projeksiyon nöronları, ağırlı visseral inputlara cevap verir.

Bu hücrelerin birçoğunun hücre gövdeleri, lamina III ve IV'de bulunur (68), ancak lamina X'da da bulunduğu gösterilmiştir (69). Postsinaptik dorsal kolon nöronları, dorsal medulladaki dorsal kolon çekirdeklerine çaprazlaşmadan doğrudan projeksiyonlar gönderir. Sakral spinal seviyedeki hücreler, grasilis çekirdeğinde sonlanır ve torasik spinal seviyelerdeki hücreler hem grasil hem de kuneat çekirdeğinde son bulur. Lamina X postsinaptik dorsal kolon nöronları, visseral nosiseptif bilgiyi talamusa iletir ve deriden ve diğer somatik yapılardan nosiseptif bilgi alan, aynı talamik hücrelerin bazıları ile birleşir (70).

2.2.1.3. Spinoretiküler Yollar

Omurilikten gelen birçok projeksiyon aksonu, inen ağrı modülasyonu, otonomik cevap, uyarı yanıtı, kaçış cevabı ve limbik ve kortikal aktivasyon dahil olmak üzere, ağrıyla ilişkili aktivitelerde yer alan beyin sapı bölgelerine doğrudan ve kollateral innervasyon sağlar. Toplu olarak, bu nöronlar spinoretiküler sistem olarak adlandırılır. Bu bütünleştirici bölgeler, ağrı durumunu belirleyen karşılıklı yüksek beyin bağlantısıyla, nosisepsiyon üzerindeki uyarıcı ve inhibe edici nöronal etkileri modüle eder (57, 71).

Dorsal spinomedüller yol, lamina I, IV ve X'daki hücrelerden doğar ve dorsal medullanın kuneat ve solitar çekirdeğine, dorsal medüller retiküler formasyonun, retikülaris dorsalis çekirdeğinde bilateral olarak sonlanır (72). Bu çekirdek, azalan inhibisyonun dengelenmesinde ve nosiseptif işlemlerin kolaylaştırılmasında aktif beyin sapı bölgesidir (73).

2.2.1.4. Spinotalamik, Limbik ve Kortikal Bağlantılar

Ağrıya genellikle, acı, endişe, dikkat ve uyarılma, kalp hızı ve kan basıncının artması, endokrin ve otonomik tepkilerdeki değişiklikleri içeren duygusal tepkiler eşlik eder. Medial ve lateral ağrı yolları, duygusal ve ayırt edici ağrı hissi oluşturur. Ventrolateral STT, ağrı ve sıcaklık, somatotopik lokalizasyon ve kutanöz ağrının şiddeti ve niteliği hakkında spesifik olarak ayırt edilmesinde bilgi sağlar.

Spinohipotalamik ve spinoamigdalar yolları, ağrıya verilen otonomik ve duygusal cevaplarla ilgilidir (74). Bu yolların çıkan aksonal projeksiyonları, esas olarak spinal kord lamina I ve X'dan kaynaklanmaktadır ve lateral hipotalamus ve amigdalanın merkezi çekirdeğinde sinaps yaparlar. Her iki bölge de antinosisseptif etkilere, ayrıca

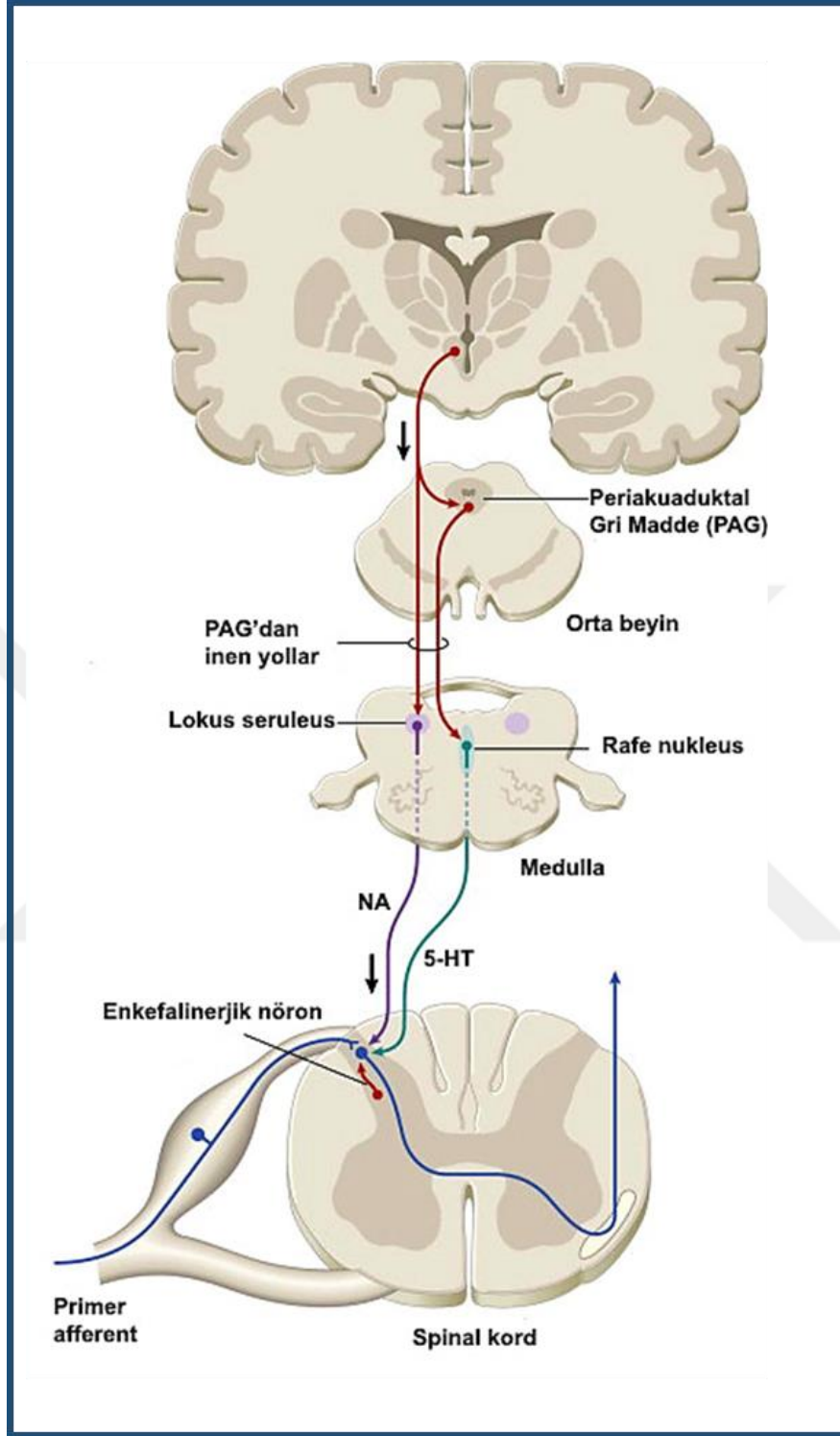
medial talamus ve limbik sistemin diğer bölümleriyle bağlantılar yoluyla nosiseptif girdilere, otonomik ve duygusal (affektif) tepkilerde rol oynar (25).

2.2.2. İnen Yolların Ağrı Modülasyonu

Davranışsal, elektrofizyolojik ve morfolojik çalışmalara dayanan bulgular antinosisepsiyonun, rostral ventromedial medullaya (RVM) ve omuriliğe iletilen PAG yoluyla gerçekleştiğini göstermiştir. Daha sonraki bulgular, sürecin daha karmaşık devrelere aracılık ettiğini açığa çıkarmıştır. Kapsamlı davranışsal ve elektrofizyolojik çalışmalar, bulbospinal kolaylaştırıcı projeksiyonların ve özellikle RVM'den inen yolların, dokusal ve termal hiperestezi sağladığını göstermiştir (75). RVM, orta hat rafe sistemi ve bitişik ventral retiküler formasyondan oluşur. Dorsolateral ponsun noradrenerjik nöronları ve nukleus rafe magnus arasındaki eksitatör SP ve inhibitör enkefalinergik bağlantılar, inen ağrı kontrol sisteminin ana kısmını oluşturur (76).

Nosiseptif sürecin kolaylaştırıcı ve inhibe edici modülasyonunun oluşmasında, inen kontrol sistemlerin supraspinal devresindeki spesifik nörotransmitterler rol oynar. Dorsolateral ponsun omuriliğe inen noradrenerjik girişin akut ağırlı uyaranlara verilen yanıtları sınırladığı gösterilmiştir. Ancak, lokus seruleusun inhibe edilmesi, uzun süreli nosiseptif aktivasyon sağlamıştır (77). Spinal nosisepsiyonun inhibisyonu, inen aksonal projeksiyonlar yoluyla PAG'dan başlar (78). Dorsolateral ponslarda noradrenerjik ve serotonerjik hücre grupları omuriliğe inhibe edici geribildirim sağlar.

Analjezi sisteminde PAG'dan köken alan pek çok sinir lifi sonlanması enkefalin salgılar. Rafe magnus nukleusunda sonlanan liflerin çoğundan enkefalin serbestlenir. Bu nukleustan köken alan ve omuriliğin dorsal boynuzunda sonlanan lifler, serotonin salgılar ve lokal omurilik nöronlarının enkefalin salgılamasına yol açar. Enkefalin hem C tipi hem de Aδ tipi liflerin dorsal boynuzda sinaps yaptıkları yerde, presinaptik ve postsinaptik inhibisyona yol açar. Böylece analjezi sistemi ile ağrı sinyalleri omuriliğe ilk giriş noktasında bloke edilir (79) (Şekil 5).



Şekil 5. Endojen ağrı modülasyon sistemi (80). PAG'dan ve üçüncü ventriküle yakın bölgelerden inen yollar, ventromedyal medulladaki nöronlardan NA ve 5-HT salınımı ve omurilikte ağrı sinyallerini baskılayan enkefalinerjik nöronların varlığı gösterilmiştir (5-HT, Serotonin; NA, Noradrenalin; PAG, Periakuaduktal Gri madde)

2.3. AĞRI ÖLÇÜMÜNDE KULLANILAN DENEYSEL MODELLER

Deneysel ağrı araştırmalarında amaç ya ağrının özelliklerini ve doğasını açıklamaktır ya da herhangi bir maddenin ağrının algılanması üzerine olası etkisinin araştırılmasıdır. Hayvanlarda ağrı eşiğinin ve analjezinin değerlendirilmesi oldukça zordur. Ağrı kavramının tek başına subjektif olmasının dışında, hayvan davranışları ile ilişkilendirilmesi hala yeterince tanımlanabilmiş değildir. Sözlü olarak kendini ifade edemeyen hayvan, benzer durumlarda benzer motor davranışlarla kendini ifade edecektir. Yanıt çoğu kez basit bir refleks, bazen vokalizasyon veya kaçma olabilir. Önemli olan bu davranışların, doğru değerlendirilerek hayvanın ağrıyla ne zaman algıladığını tespit edebilmektir (81).

2.3.1. Termal Uyarının Kullanıldığı Testler

Tail-Flick ve Tail İmmersiyon Testleri:

Tail-flick testi ilk kez D'Amour ve Smith tarafından 1941'de (82), tail immersiyon testi ise Ben-Bassat tarafından 1959'da (83) tanımlanmıştır. Tail-flick testinde hayvanın kuyruğunun belirli bir noktasına radyant ısı uygulanır. Hayvan ağrıyla hissettiği an kuyruğunu çeker ve bir fotosensör aracılığıyla devre kapanır. Uygulamanın başladığı andan itibaren, kuyruğun ısı uygulanan noktadan çekilmesine kadar geçen süre tespit edilir. Kuyruk çekme süresi olarak değerlendirilen bu spinal refleks, o hayvanın ağrı eşiğini belirler. Test, spinal nosiseptif refleksin değerlendirilmesinde kullanılır. Bir farenin normal reaksiyon süresi, ortalama 2 ila 10 saniye arasında değişir. Doku hasarına sebep olacağı için radyant ısının 15 saniyeden fazla uygulanması tavsiye edilmez. Bu nedenle uygulama için mutlaka bir sonlandırma süresi (cut-off time) belirlenmelidir (84).

Tail immersiyon testinde ise, hayvanın kuyruğu bir termostat vasıtasıyla sabit ısıda tutulan suya (veya prensip olarak $<0^{\circ}\text{C}$ 'da sıvı olarak kalabilen herhangi bir solüsyona) batırılır. Kuyruğun sıcak suya batırılması birkaç saniye içinde kuyruğun bazen de tüm bedeninin çekilmesi ile sonlanır. Reaksiyon süresi hayvanın ağrı eşiğini belirler (84).

Hot-Plate Testi:

Eddy ve Leimbach tarafından, 1953 yılında geliştirilmiştir (85). Hot-plate testi temel olarak $50-56^{\circ}\text{C}$ 'ye ısıtılmış bir yüzeyden (bakır veya alüminyum) oluşur. Hayvanın ısıtılan yüzey üzerinde belli bölge sınırlarında kalması için hareket kabiliyetini

sınırlamayacak büyüklükte cam veya pleksiglas silindirler kullanılır. Yüzeğe farenin bırakılmasından, hayvanın arka ayağını çekmesine kadar geçen süre tespit edilir. Davranış sadece arka ayağın çekilmesi olabileceği gibi ayak çekme ve yalama, tekmeleme, sallama, dansetme veya sıçrama şeklinde de olabilir. Daha az sıklıkla hayvan sadece ön ayaklarını yalayabilir veya ön ayaklarla başlayan reaksiyon arka ayağın yalanmasıyla sonlanabilir. Bir farenin normal reaksiyon süresi, ortalama 5 ila 20 saniye arasında değişir. Doku hasarına sebep olacağı için test 30 saniyeden fazla uygulanmamalıdır (86).

2.3.2. Mekanik Uyarının Kullanıldığı Testler

Ayak Çekme Testi (Paw Withdrawal/ Paw Pressure Test):

1957 yılında, Randall ve Selitto tarafından geliştirilmiştir (87). Mekanik uyarın hayvanın pençesine (metatarsal arasında bir noktaya), bir pedal yardımıyla giderek artan oranda basınç uygulanır. Hayvanın göstereceği tepki davranışı ile uygulama sonlandırılır. Temel yanıt vokalizasyondur, çoğu kez vokalizasyona ayak çekme davranışı da eşlik eder. Bu model akut ağrı, kronik ağrı, nöropati ve uzun süreli inflamasyonun eşlik ettiği hiperaljezi durumlarında kullanılır.

Kuyruk Sıkıştırma Testi (Tail Pinch/Tail Clip Test):

Haffner tarafından 1929'da tanımlanmıştır (88). Uygulanan basıncın büyüklüğüne bağlı olarak, ya çok kısa sürede (<2 saniye) ya da daha uzun sürede kuyruğa/klipse tepki gösterilir. Araştırmada farklı şiddette uyarı sağlayan farklı klipsler ve belli bir klips ile eşik/eşik üstü süre tespit edilebilir.

2.3.3. Kimyasal Uyarının Kullanıldığı Testler:

Karın Germe/Kıvrınma (Writhing) Testi:

1950'lerde tanımlanmış ve sıklıkla kullanılmış bir testtir. Temel davranış, fenilkinon veya asetik asit gibi enjekte edilen maddeye karşı karın kaslarının kasılması ve onu izleyen arka ayaklarda ekstansiyondur. Daha çok zayıf analjezi potansiyeli olan maddelerin etki gücünü tespit etmekte kullanılır (89).

Formalin Testi:

1977'de Dubuisson ve Dennis tarafından geliştirilmiştir (90). En çok kullanılan kimyasal uyarandır. Yüzde 37'lik formalin solüsyonu subkutan olarak arka ayağın dorsal veya ventral yüzeyine enjekte edilir. Enjeksiyonu izleyen temel davranış, hayvanın ayağını yalanması ve/veya ısırmasıdır (91).

2.4. OPIOİD ANALJEZİKLER

Opioidler, ağrı ve ilgili hastalıkların tedavisinde kullanılan en yaygın ve etkili analjeziklerdir. Opiatlar, ağrı tedavisi için binlerce yıldır kullanılmaktadır. Son yüzyılda, reseptör farmakolojisi ve tıbbi kimya alanında doğal olarak oluşan opioidlerden elde edilen opiatların geliştirilmesinde büyük adımlar atılmıştır. Opioidler, ağrının yanı sıra, ishal, öksürük, ameliyat sonrası ağrı ve kanser de dahil olmak üzere birçok rahatsızlığın tedavisinde sıklıkla kullanılmaktadır (92).

Merkezi sinir sisteminde opioid bağlanan bölgeler ve endojen opioidler, izole beyin dokuda radyo ligand kullanılarak, memeli beyin dokusunda 1970'li yıllarda gösterilmiştir (93). Endojen opioid sistem, farklı fizyolojik fonksiyonlara sahiptir. Endojen opioid peptitler proopiomelanokortin, proenkefalin, prodinorfin ve pronosiseptin/orfanin FQ 4 prokürsörlerinden oluşur. Her biri, opioidergik nöronların sinaptik terminallerinden salınan biyolojik olarak aktif peptitleri oluşturur. Bu peptitler opioid ve opioid hedef nöronların pre- ve postsinaptik membranlarında bulunan opioid reseptör ile etkileşime girerek fizyolojik etkilerini gösterir (94).

Opioid sistemler, ağrı davranışı ve antinosisepsiyon modülasyonunda kritik öneme sahiptir. Opioid analjezikler, cerrahi müdahale ya da hastalıkla ilişkili akut ve kronik ağrıyı tedavi etmek için yaygın kullanılır. Opioidlerin solunum depresyonu, sedasyon, kusma, öfori ya da disfori, gastrointestinal sistemde motilite azalması ve kaşıntı gibi çeşitli yan etkileri vardır (95).

2.4.1. Opioid Reseptörler

Opioid peptitler ve reseptörleri, ödül ve duygularla ilişkili beyin yapılarını içeren merkezi sinir sisteminin bölgelerine ek olarak, nosiseptif nöral devre boyunca eksprese edilmiştir. Bugüne kadar dört farklı opioid reseptör sistemi Mu (μ), Delta (δ), Kappa (κ),

Nosiseptin/Orfanin FQ reseptörleri (NOR/ORL1) ve genleri, hücresel, moleküler ve farmakolojik seviyelerde tanımlanmıştır (96, 97) (Tablo 3).

Tablo 3. Opioid reseptör alt tipleri, lokasyonu ve fonksiyonları

Reseptör	Alt tip	Lokasyon	Fonksiyon
Mu (μ), MOR	μ 1, μ 2, μ 3	Korteks Talamus PAG Spinal kord Periferik duyu nöronları İntestinal yol	Analjezi İntestinal motilite Solunum depresyon Fiziksel bağımlılık Öfori Miyozis Vazodilatasyon
Delta (δ), DOR	δ 1, δ 2	Pontin nukleus Amigdala Olfaktor bulb Periferik duyu nöronları	Analjezi Konvulsan etkiler Antidepresan etkiler Fiziksel bağımlılık
Kappa (κ), KOR	κ 1, κ 2, κ 3	Beyin Hipotalamus PAG Spinal Kord Periferik duyu nöronları	Analjezi Depresyon Disfori Miyozis Nöroprotektif Sedasyon Stres
Nosiseptin Reseptör, NOR	ORL1	Korteks Hipokampus Amigdala Hipotalamus Spinal kord	İştah Anksiyete Depresyon

Opioid reseptörleri, G protein bağlı reseptör (GPCR) süperfamilyasına ait, 7 kez membranı kat eden serpentin reseptörleridir. GPCR'ler, kısa loplara ile birbirine bağlı yedi hidrofobik transmembran alanı içerir ve ekstrasellüler bir N-terminal alanı ve intrasellüler C-terminal kuyruğundan oluşur. Mu, delta ve kappa reseptörleri, transmembran bölgeleri ve intrasellüler loplara ile oldukça homologdur. Ancak, hücre dışı loplara ve N- veya C-terminal kuyruklara büyük ölçüde farklılık gösterir (98).

2.4.2. Opioid Reseptör Alt Tipleri

2.4.2.1. Mu Opioid Reseptör (MOR)

Opioid reseptör ligandları ile yapılan farmakolojik çalışmalar, opioidlerin terapötik ve yan etkileri ile ilgili, primer medyatör olarak MOR reseptörünü tanımlamıştır. MOR, GPCR süper ailesine ait transmembran bir proteindir ve μ 1, μ 2 ve μ 3 olarak üç reseptör alt tipinden oluşur. MOR serebral korteks, amigdala, kaudat

putamen ve PAG'da yoğun bulunur. MOR, omuriliğin dorsal boynuzunda, primer afferent nöronlar üzerinde presinaptik terminallerde lokalizedir ve A δ ve C liflerinden gelen ağrı uyarılarının transmisyonunu önler (99). MOR'lar, ayrıca immün fonksiyon, termoregülasyon, kalp, vasküler sistem, gastrointestinal sistem ve endokrin sistem üzerinde de etkilidir (100).

2.4.2.2. Kappa Opioid Reseptör (KOR)

KOR (κ_1 , κ_2 , κ_3), klonlanan opioid reseptör alt tiplerinden ikincisidir. Ağrı algısı ve bilinci, ruh hali ve motor kontrol üzerine etkilere sahiptir. KOR agonistleri, güçlü analjezik ajanlardır ve klinikte şiddetli ve kronik ağrının tedavisinde kullanılır. KOR agonisti ile yapılan klinik deneylerde, disfori, sedasyon ve diürez gibi yan etkilere neden olmuştur (101). KOR agonistlerinin, glutamat salınımını önlemesinden dolayı, nöroprotektif aktiviteye sahip olabileceği öne sürülmüştür. KOR agonistlerinin olumsuz etkileri, etkili klinik kullanımlarını sınırlamıştır (97).

2.4.2.3. Delta Opioid Reseptör (DOR)

DOR (δ_1 , δ_2), ilk klonlanan opioid reseptördür ve beyin korteksi, nukleus akkumbens, amigdala ve kaudat putamende yoğun bulunur. Bu reseptörler, opioidlerin hem spinal hem de supraspinal bölgeler yoluyla analjezik etkilerine katılır. DOR agonistlerinin, ayrıca bağırsak peristaltik hareketlerini azalttığı ve solunum sistemi üzerine de yan etkilere neden olduğu öne sürülmüştür (102). DOR nakavt fareler ile yapılan çalışmalarda, lokomotor aktiviteyi artırdıkları ve depresif ve anksiyojenik davranış sergiledikleri bildirmiştir (103).

2.4.2.4. Nosisseptin Orfanin FQ Reseptörleri (NOR/ORL1)

NOR (ORL1 reseptörleri), opioid reseptör ailesinin en genç üyeleridir. NOR, dopamin (DA) endojen antagonisti olarak görev yapar ve ağrı iletimi, beslenme, hafıza, öğrenme, stres ve kaygı düzenlenmesi gibi birçok beyin aktivitesinde rol oynar (104).

NOR'un hiperanaljezik veya anti-analjezik etkiye sahip olduğu gösterilmiştir. NOR agonistleri, supraspinal olarak uygulandığında pronosisseptif etkiler üretir. Ancak, yüksek dozlarda spinal uygulanan NOR agonistleri, analjeziye neden olur. NOR agonistlerinin anti-analjezik etkisinin, endojen opioidlerin inhibisyonuna neden olan supraspinal hiperanaljezik etkisi ile oluştuğu ileri sürülür (105).

2.4.3. Opioid Reseptörlerin Moleküler Mekanizması

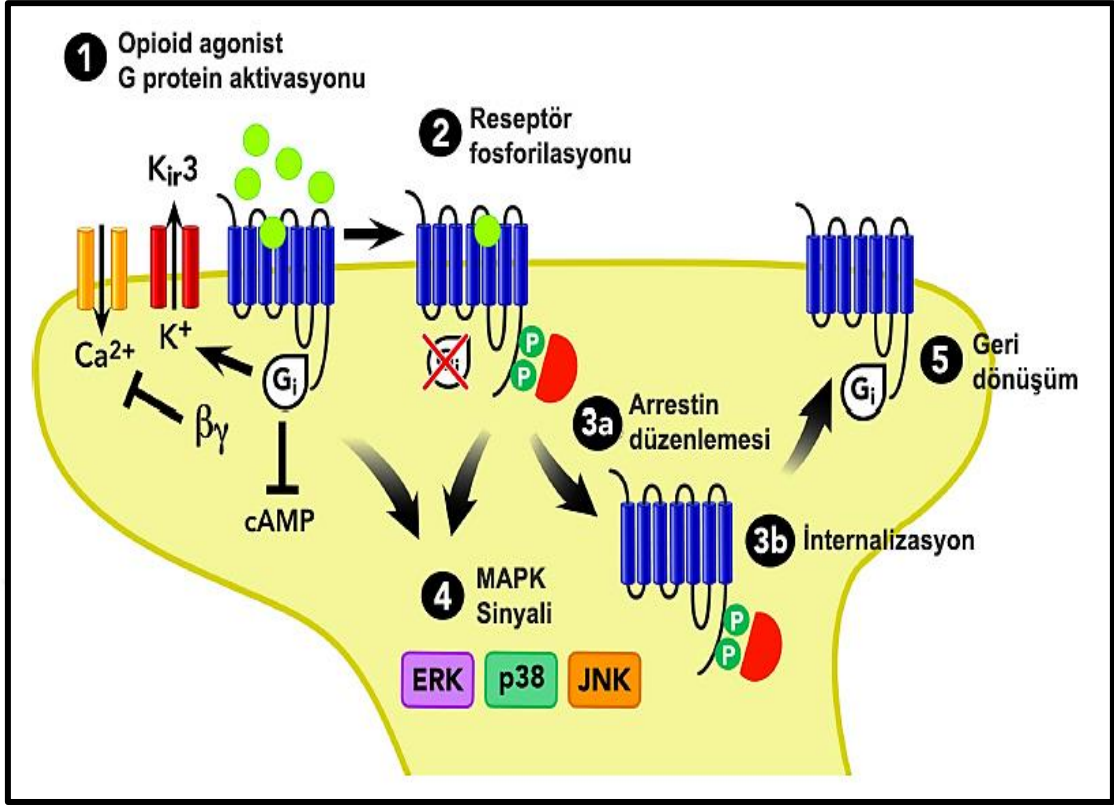
Opioid reseptörlerin, endojen ve eksojen agonistler tarafından aktivasyonu ile $G\alpha$ ve $G\beta\gamma$ alt birimleri birbirlerinden ayrışır ve çeşitli hücre içi efektör yollar üzerine etki eder. Guanozin trifosfat (GTP) gibi guanin nükleotidleri, modüle edilir ve GTPaz aktivitesi uyarılır (106). Ayrıca, opioid reseptörlerin uyarılması ile GPCR'ler siklik adenozin monofosfat (cAMP) üretimini inhibe eder. Opioid reseptörlerin, cAMP sinyal yolağı inhibisyonu, G protein alt tipi $G\alpha_i$ 'ye bağlı olarak gerçekleşir (107).

Opioid reseptörü sinyal iletiminde, Ca^{+2} ve K^+ iyon kanalları modüle edilir. $G\beta\gamma$ 'dan $G\alpha_i$ ayrışmasının ardından, $G\alpha$ protein alt birimi doğrudan G protein kapılı potasyum kanalı K_{ir3} ile etkileşime girer. Kanal deaktivasyonu, GTP'yi guanozin difosfata (GDP) hidroliz eder ve $G\beta\gamma$ kanaldan ayrılır. Bu işlem, hücrel hiperpolarizasyona neden olur ve tonik nöral aktiviteyi inhibe eder. Opioidlerin nöral uyarılabilirlik üzerindeki inhibitör etkilerine, G proteini ile regüle olan potasyum kanalı (K_{ir3}) aracılık eder (108) (Şekil 6).

Dört opioid reseptörü aktive olduğunda, Ca^{+2} akımlarında bir azalmaya neden olur. Opioid reseptörün indüklediği kalsiyum iletkenliği inhibisyonuna, $G\beta\gamma$ alt biriminin doğrudan kanala bağlanması aracılık eder. Opioid agonistlerinin akut uygulaması, sinaptik veziküller ve sinaptozomlardaki Ca^{+2} içeriğini azaltır (109). Ayrıca, μ -, δ ve κ opioid reseptörlerinin aktivasyonu ile adenilat siklaz (AC) aktivitesi inhibe edildiği için, cAMP'ye bağlı Ca^{+2} akışı da azalır (92).

μ , δ ve κ opioid reseptörlerinin fosforilasyonu, arrestin 2/3 aracılı meydana gelir. Arrestin molekülleri, reseptör aktivasyonu ve duyarsızlaşmasını regüle etmek için fosforlanmış reseptörleri bağlayan anahtar proteinlerdir. Opioid reseptörleri, arrestin-2 (β -arrestin 1) ve arrestin-3 (β -arrestin 2) bağlanmasıyla düzenlenir. Arrestin molekülü reseptörlerin internalizasyonunda aracı rol oynar (110).

Bir opioid reseptörün fosforilasyonu, arrestin ve hücrel tolerans mekanizmalarına ilişkin aktivasyonu mitojen aktiviteli protein kinaz (MAPK) sinyal yolağı ile gerçekleşmektedir (92). MAPK yolağı, hücre içi ve hücre dışı sinyalleri aktarma kapasitelerine sahip, hücrel tepkileri yönlendiren çeşitli sinyal kaskadlarıdır (111). MAPK ailesi, ekstrasellüler sinyal regüle kinaz 1 ve 2 (ERK 1/2), c-jun n-terminal kinaz 1-3 (JNK1-3) ve p38 (α , β , γ , δ) kinaz içeren 12 ila 15 gen ürününden oluşur.



Şekil 6. Opioid reseptör sinyal mekanizması (92). Opiod reseptörü sinyal iletim yolağı sırasıyla gösterilmiştir. Genel olarak, dört opioid reseptör alt tipinin tümü (μ), delta (δ), kappa (κ) ve opioid reseptörü benzeri-1 (NOR)) bu ortak yolları paylaşır. Her bir opioid reseptöründeki seçici ligandlar, opioid reseptörlerinin, bu sinyalleşme olaylarının bir veya daha fazlasını yönlendirir. Oklar, aktivasyon adımlarını, T çizgileri, blokaj veya fonksiyon inhibisyonunu gösterir (β_γ , G protein β_γ altbirim; cAMP, siklik adenozin monofosfat; ERK, ekstrasellüler sinyal regüle kinaz; JNK, c-jun N-terminal kinaz; MAPK, mitojen aktiviteli protein kinaz; P, fosforilasyon)

En çok incelenen opioid kaynaklı MAPK kaskadı, ERK 1/2'dir. Opioid reseptör stimülasyonunun astrosit kültürlerinde ve transfekte edilmiş hücre hatlarında ERK 1/2 fosforilasyonunu başlattığı gösterilmiştir. JNK MAPK yolu, stres, iltihaplanma, sitokin aktivasyonu ve nöropatik ağrı gibi çevresel tetikleyiciler tarafından aktive edilir (112). GPCR'ler ve opioid reseptörleri tarafından JNK aktivasyonu ayrıntılı olarak incelenmemiş, ancak tüm opioid reseptörü alt tiplerinde gösterilmiştir (113). p38 MAPK yolağı ise çevresel stres ve iltihaplanmada önemli bir rol oynar ve sitokin üretimi ile aktive olur. Opioid-indüklü p38, iyon kanallarının modülasyonu ve transkripsiyon faktörlerini içeren birkaç potansiyel hedefe sahiptir (114).

2.4.4. Opioid Tolerans Mekanizması

Opiat ilaç formülasyonları, ağrı ile ilişkili akut, kronik ve kansere bağlı çeşitli tedavilerde etkili olmuştur. Opioidlerin klinik faydası, yan etkilerinden dolayı sınırlıdır. Opiatların periferik (kabızlık, idrar retansiyonu, ürtiker, bronkospazm) ve merkezi etkileri (mide bulantısı, sedasyon, solunum depresyonu, hipotansiyon, miyozis) en sık görülen yan etkileridir (115). Opioid tolerans, klinikte analjezik etkilerini korumak için dozu artırma ihtiyacı olarak tanımlanmaktadır. Bununla birlikte, dozdaki bu artış, yukarıda belirtilen yan etkilerin kalıcı sorununu daha da artırabilir. Bu sürekli analjezi ve yan etkiler döngüsü, opioidlerin klinikte kullanılmasının en büyük zorlukları arasındadır. Bu klinik problemler, opioid reseptör toleransı, regülasyonu ve sinyal iletiminin moleküler ve farmakolojik mekanizmalarının daha iyi anlaşılması için devam eden ihtiyacı daha da vurgulamaktadır (92).

Opioid toleransının iki ana teorisi, opioid reseptörlerindeki değişiklikleri içerir. İlk teori, reseptörlerin, opioidlere uzun süre maruz kalmasıyla reseptör aktivasyonunun azalması veya reseptör duyarsızlaşması meydana gelmesidir. Diğer teori ise, opioid reseptör down-regülasyonudur (116).

Duyarsızlaşma mekanizması, opioid reseptörlerinin fizyolojisindeki değişiklikleri içerir. Opioid reseptöre bağlandığı zaman, G proteinlerinin aktivasyonu, ağrı yollarındaki nöronların hücre zarları boyunca uyarılabilirliğinin azalmasına yol açar. cAMP azalır, Na⁺ ve Ca⁺² kanalları baskılanır ve analjezi meydana gelir. Zamanla, G protein aracılı mekanizmadaki değişiklikler, opioid reseptörde oluşan duyarsızlaşma ile analjezinin azalmasına neden olur (117). Reseptör duyarsızlaşması, sıçanlarda morfin tolerans ile ilişkilendirilmiştir (118).

Opioid toleransından sorumlu olduğuna inanılan, ikinci bir mekanizma, opioid reseptörünün hücre zarında internalizasyonu ile oluşur. Opioid reseptörlerin yoğunluğu, endositoz ile kontrol edilir. Burada hücre zarı, reseptörün etrafını kapatır, etkili bir şekilde reseptörün etrafında bir hücre zarı oluşturur ve hücre içine çeker. Reseptör intrasellüler ortama girdikten sonra, fonksiyonunu kaybeder ve down-regüle olur. Down-regülatörlerden (β -arrestin2) yoksun olan hayvanlarda, morfin kaynaklı analjezi devam ederken, bu down-regülatör bulunması, analjezik etkilere karşı "tolerans" geliştirmiştir (110).

Reseptör duyarsızlaştırmada β -arrestin rolü, uzun süreli analjezi gelişen β -arrestin nakavt farelerde tanımlanmıştır (110). β -arrestin, klatrin örtülü çukurlarda klatrin reseptör kompleksini bağlayan adaptör proteinlerini alarak endositoz ile toleransı modüle edebilir. İnternalizasyonun ardından, reseptör, resensitize edilmiş bir reseptör olarak plazma membranına geri dönüştürülür veya yıkım için lizozoma gönderilir. Bu nedenle, agonist bağlanması, antinosisepsiyon ve tolerans başlangıcına aracılık eden çeşitli hücrel adaptasyonlara neden olur (119).

Kronik opioid kullanımı ile ayrıca, adenilat siklaz aktivasyonu ile cAMP yolağının uyarılması, iyon kanalı iletkenliğinde değişiklikler, nörotransmitter salınımında artış ve CREB fosforilasyonu ve ekspresyonundaki değişimler ile gen ekspresyonunun değişimi meydana gelir (120). Opioidlerin doğrudan etkilerine ek olarak, dopamin, serotonin ve glutamin gibi nörotransmitterler, opioid toleransı ve antinosisepsiyon mediyatörleri olarak da gösterilmiştir (121-125). Özellikle, NMDA duyarlı glutamat reseptörü üzerinde çok sayıda çalışma yapılmıştır. MOR ve NMDA reseptör sistemleri arasındaki ilişki, kısmen merkezi dokularda ortak lokalizasyona sahiptir (126). Glutamat ve inorganik iyonların sinaptik aralıktaki konsantrasyonlarında küçük değişiklikler, Ca^{+2} akışına izin verir ve L-arjinin'den nitrik oksite (NO) dönüştüren nöronal nitrik oksit sentazı (NOS) aktive eder. Son olarak, NO, toleransta aracı bir medyatör olan guanil siklaz yoluyla, GTP'nin, siklik guanozin monofosfata (cGMP) dönüşümüne aracılık eder. Kronik opioide maruz kalma, opioid toleransının gelişmesine katkıda bulunan hücre içi Ca^{+2} , NO ve cGMP seviyelerini artırarak, NMDA reseptör fonksiyonunu artırır. Antinosisepsiyonu artırmak ve toleransı geciktirmek için NMDA reseptör antagonistlerinin veya L-argininden NOS üreten inhibitörlerin kullanılmasının etkili olduğu kanıtlanmıştır (127).

Spinal kord seviyesinde meydana gelen birkaç patojenik süreç, opioid tolerans gelişimine katkıda bulunmaktadır. NO ve süperoksit türevli peroksit nitrit üretimi aşırı DNA hasarına neden olan oksidatif stresi, TNF- α gibi proinflamatuvar sitokinlerin salınımını içerir ve nöronal apoptozisi indükler. Antinosiseptif tolerans gelişiminde, proinflamatur sfingolipit seramidin de önemli bir sinyal mediatörü olduğu gösterilmiştir (128). Kronik morfin kullanımı ile endojen proapoptotik mediatörlerden biri olan seramid üretimi, TNF- α gibi sitokinlerin artmasına neden olur (129).

2.5. SEROTONİN

Serotonin, (5-hidroksitriptamin, 5-HT) periferik ve MSS'de yaygın olarak bulunan bir monaamindir. Serotonin, ilk önce enterokromaffin hücreler tarafından sentezlenen bir çevresel vazokonstriktör madde olarak izole edilmiştir. Merkezi sinir sisteminde ve beyinde heterojen dağılımına göre nörotransmitter olarak işlev gördüğü önerilmiştir (130).

5-HT, MSS'de sınırlı sayıda nöronda (beyin sapındaki B1-B9 çekirdekleri) sentezlenmesine rağmen, etkisi tüm MSS'de yaygındır. Uyku/uyanıklık döngüsü, lokomasyon, termoregülasyon, iştah, kognisyon, ağrı, migren, duygudurum kontrolü, depresyon, jeneralize anksiyete ve cinsel davranış kontrolü 5-HT'nin ana fizyolojik özellikleri arasındadır. Periferde 5-HT, gastrointestinal peristaltizm, hemostaz ve kan basıncının regülasyonu gibi birçok fizyolojik ve homeostatik sürece katılır. 5-HT ayrıca gastroenterik hastalıklar (irritabl barsak sendromu gibi) ve kardiyak aritmi, iletim bloğu veya valvüler fibroplazilerde rol oynar (131).

5-HT reseptör genlerinin aşamalı klonlanması ile 5-HT reseptörleri yapısal ve transmisyon karakterlerine göre 7 sınıfa ayrılır (5-HT₁₋₇) (132) (Tablo 4). 7 sınıf 5-HT reseptörünün en az 15 alt tipi tanımlanmıştır. 5-HT reseptörleri heterotrimerik G protein bağlı reseptörlerdir (133). 5-HT₁ reseptörleri (1A, 1B, 1D, 1E ve 1F) G_i proteinlerine bağlı, adenilat siklazı inhibe eden reseptörlerdir ve hipokampus, bazal ganglionlar ve rafe nukleusunda lokalizedir. 5-HT₂ reseptörleri (2A, 2B ve 2C), G_q protein reseptörü aracılı fosfolipaz C kaskadı aktive eder ve korteks, hipokampus, bazal ganglionlar ve medulla spinalisde lokalizedir (134). 5-HT₃ reseptörü, ligand kapılı iyon kanallarına aittir (135). 5-HT₃ reseptörleri, hem periferik hem de merkezi nöronlarda, omurilikte substantia jelatinosada, beyin sapı, korteks ve entorinal korteks ile hipokampus ve amigdala gibi limbik bölgelerde bulunur (134). 5-HT₄, 5-HT₆ ve 5-HT₇ reseptörleri, G_s proteinlerine bağlanır ve adenilat siklazı aktive eder. 5-HT₄ reseptörü alt tipleri temel olarak hipokampus ve bazal gangliyonlarda, 5-HT₆ reseptörleri, hipokampus, amigdala, striatum ve kortekste, 5-HT₇ reseptörleri ise amigdala, hipokampus ve hipotalamustan ekspres edilir. Ayrıca, 5-HT₅ (5A ve 5B) reseptörünün alt tipleri ise hipotalamus, hipokampus, serebellum ve kortekste lokalizedir ve G_i proteinlerine bağlı, adenilat siklazı inhibe ederek etkisini gösterir (97, 133).

Tablo 4. Serotonin reseptör alt tipleri yapısı, fonksiyonu ve karakteristik özellikleri

Reseptör	Reseptör alt tipi	Kromozom/ Geni	Sinyal Mekanizması	Lokasyon	Nörotransmisyon Etkisi	Töropatik Hedefi
5-HT ₁	5-HT _{1A}	5q11.2–q13	Gi, ↓cAMP G-protein bağımlı-K ⁺ akışı	MSS, nöron	↑Asetilkolin ↑Noradrenalin ↑Dopamin	Depresyon Anksiyete/stres Panik Agresyon Kognisyon
	5-HT _{1B}	6q13	Gi, ↓cAMP	MSS ve bazı periferik sinirler	↓5-HT ↓Asetilkolin ↓Glutamat ↓Dopamin	Depresyon Anksiyete Agresyon Migren İlaç bağımlılığı
5-HT ₂	5-HT _{1D}	1p34.3–36.3	Gi, ↓cAMP	MSS	↓Glutamat	Migren
	5-HT _{1E}	6q14–q15	Gi, ↓cAMP	MSS	-	Bellek
	5-HT _{1F}	3q11	Gi, ↓cAMP	MSS	-	Migren
	5-HT _{2A}	13q14–q21	Gq, ↑PLC	Vasküler düz kas	↑Glutamat ↑Dopamin	Depresyon Anksiyete Şizofreni Kognisyon Yeme Bozukluğu Uyku Bozukluğu
	5-HT _{2B}	2q36.3–2q37.1	Gq, ↑PLC	Periferal		Depresyon Anksiyete Uyku Bozukluğu Migren
5-HT _{2C}	Xq24	Gq, ↑PLC	MSS, koroid pleksus	↓Dopamin	Anksiyete Obezite Kognisyon	
5-HT ₃	5-HT ₃	11q23.1-23.2 (A) 11q23.1 (B) 3q27 (C/D/E)	İyon iletkenliği (K ⁺ , Na ⁺ , Ca ⁺²)	Periferal ve merkezi nöronlar	↑5-HT ↑Dopamin ↓Asetilkolin	Emezis Anksiyete Kognisyon İlaç Bağımlılığı Analjezi Kronik Yorgunluk Sendromu
5-HT ₄		5q31–q33	Gs, ↑cAMP	GİS yollar, MSS, kalp, mesane	↑Asetilkolin ↑Dopamin ↑5-HT	Kognisyon Anksiyete
5-HT ₅	5-HT _{5A}	7q36	Gi, ↓cAMP Ca ⁺² mobilizasyon, K ⁺ akışı	MSS	-	Lokomasyon Uyku
	5-HT _{5B}	2q11–13 (fonksiyonel değil)	Gi, ↓cAMP	MSS	-	Lokomasyon Uyku
5-HT ₆		1p35–36	Gs, ↑cAMP	MSS	↓Asetilkolin ↓Dopamin ↓Glutamat	Kognisyon Şizofreni Depresyon Anksiyete /Stres Epilepsi Obezite
5-HT ₇		10q21–q24	Gs, ↑cAMP	MSS	↑↓5-HT	Depresyon Şizofreni Uyku Bozukluğu Epilepsi Kognisyon

(cAMP, siklik adenozin monofosfat; MSS, merkezi sinir sistemi; PLC, fosfolipaz C)

2.5.1. Serotonin Reseptörlerinin Ağrı Modülasyonu

Serotonin, çeşitli akut ve kronik ağrı durumlarında modülatör olarak rol oynar (11). Periferde proinflatuar mediyatörlerle (prostaglandinler, histamin, bradikinin, laktik asit) birlikte, 5-HT inflamasyon ağrısına katkıda bulunan aktif komponentlerden biridir.

5-HT nöronları inen ağrı yollarının kontrolüne katkıda bulunur. Rafe nukleusundan kaynaklanan serotonerjik nöronlar, ağrı yollarının düzenlemesinde önemli bir rol oynar (136). RVM nöronlar, önemli kolaylaştırıcı ve inhibe edici serotonerjik projeksiyonlara yol açar. Rafe magnus, rostroventral medulla, nukleus paragigantoselülaris (nPGi) ve nPGi ventral kısımlarından inen serotonerjik nöronlar, nosiseptif sinyali ileten spinal kordun dorsal boynuz laminası ikinci sıra nöronlarda projekte olur. Spinal korda projekte olan serotonerjik nöronların alt tipleri, birkaç nöropeptit (SP, somatostatin, enkefalin, tiroksin salgılatıcı peptit), inhibitör (GABA) ve eksitator (glutamat) amino asit nörotransmitterler ile birlikte bulunur ve birlikte salınır (137).

5-HT'nin sistemik (subkutan ya da intravenöz) enjeksiyonu ise nosiseptif nöronlarda eksitasyon, sensitizasyon ve hiperaljeziye katkıda bulunur (11). 5-HT'nin periferal pronosiseptif rolü tartışmalıdır (138, 139). Örneğin formalin testine maruz kalan sıçanlarda, intratekal yolla düşük doz 5-HT enjeksiyonunun antinosiseptif etkileri uyardığı, yüksek doz enjeksiyonunun ise pronosiseptif etkileri indüklediği bildirilmektedir (139). Bu kompleks rol, periferal ve MSS'de eksprese edilen çeşitli 5-HT reseptörlerinin bulunması ile ilişkilidir.

5-HT reseptörlerinin alt tiplerinin (5-HT₁₋₇) aktivasyonu periferal, spinal ve supraspinal bölgelerde ağrı sinyal mekanizması üzerine çeşitli etkiler oluşturmuştur (16). Hayvan modellerinde, 5-HT_{1B}, 5-HT_{2C}, 5-HT₃ ve 5-HT₄ reseptörlerinin 5-HT aracılı analjeziye katıldığı önerilmektedir (14). Spinal 5-HT_{1A}, 5-HT₄ ve 5-HT₆ reseptörleri nosisepsiyonu modüle etmezken, spinal 5-HT_{1B} ve 5-HT_{2A} reseptörlerinin sınırlı antinosiseptif aktivitesi olduğu gösterilmiştir (138). 5-HT_{2A} ve 5-HT₃ agonistleri, sıçanlarda 5-HT-indüklü hiperaljeziyi taklit etmiş, fakat antagonistleri hiperaljeziyi azaltmıştır (140). Çeşitli çalışmalar, 5-HT₇ reseptörünün nosiseptif rolüne işaret etmektedir (138, 141). 5-HT₇ reseptörlerinin, çeşitli kronik ağrı modellerinde, antinosiseptif etkileri gözlenmiştir (142).

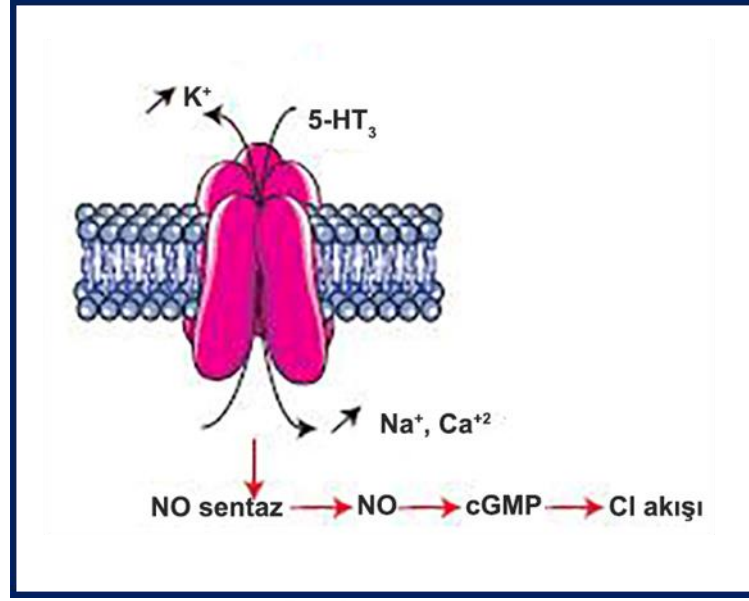
2.5.2. 5-HT₃ Reseptörleri

5-HT₃ reseptörü, 1991'de klonlanmıştır ve ekstrasellüler N-terminal domainine bağlı sistein (Cys)-loop ve 4 transmembran domain (M1- M4) içeren, Zn-aktiviteli pentamerik ligand kapılı iyon kanal ailesinin bir üyesidir. 5-HT₃ reseptörleri, sodyum, potasyum ve kalsiyum geçişine izin veren, iyonotropik 5-HT reseptör alt birimidir. Stimülasyon, iyon kanalının açılmasına, katyon akışının aracılık ettiği hızlı bir membran depolarizasyonuna neden olur. 5-HT₃ A, B, C, D ve E olarak kodlanan 5 alt tip genleri klonlanmıştır (143).

5-HT₃ reseptörü, esas olarak beyin sapında, kusma merkezi nukleus traktus solitarius, area postrema, trigeminal sinirin spinal yolak nukleusunda ve omuriliğin dorsal boynuzunda yüksek konsantrasyonlarda bulunur. Ön beyinde, amigdala ve hipokampus, frontal, piriform ve entorinal kortekslerden düşük seviyelerde eksprese edilir (144).

5-HT₃ reseptör aktivasyonu, NO sentaz uyarılmasına ve cGMP'ye bağlı Cl⁻ akışını indükleyen cGMP üretimine neden olur (145) (Şekil 7). 5-HT₃ reseptör aktivasyonu ile fosfolipaz C aktivitesi artar ve nöronal uyarım kuvvetlenir. 5-HT₃ reseptörlerinin fonksiyonu lokalizasyonlarına bağlıdır. 5-HT₃ reseptörleri aktivasyonu, sinir terminalinde 5-HT, DA veya GABA gibi çeşitli nörotransmitterlerin salınımına yol açarken (146), postsinaptik aktivasyonu hızlı sinaptik iletimde rol oynar (147).

5-HT₃ reseptörü, kusma, ağrı, inflamasyon, hiperaljezi, anksiyete, ilaç bağımlılığı ve diğer psikiyatrik bozuklukların altında yatan nöronal mekanizmalarda rol oynar. Ayrıca 5-HT₃, gastrointestinal kanalda, peristaltizmi, sekresyonu ve motiliteyi regüle eder (148). Enterik sinir sistemi içerisinde peristaltik ve sekresyon uyarıcı etkisinin, 5-HT₃ antagonistleri (setronlar) tarafından blokajının, irritabl bağırsak sendromunu hafifletmek için önerildiği ileri sürülmüştür. Bu ligandların ana terapötik uygulaması, anti-kanser tedavilerinin neden olduğu bulantı/kusmanın önlenmesidir (149).



Şekil 7. 5-HT₃ reseptör sinyali yolağı (133). 5-HT₃ reseptörleri, ligand kapılı katyon kanalı ailesinin bir üyesidir ve nöronlarda kanal boyunca Na⁺, K⁺ ve Ca²⁺ hareketlerini kontrol eder. NO sentazın uyarılması ile hücre içi Cl⁻ akışı uyarılır. Kırmızı ok stimülasyonu gösterir (5-HT₃, serotonin 3 reseptörü; Ca, kalsiyum; Cl, klor; K, potasyum; Na, sodyum; NO, nitrik oksit)

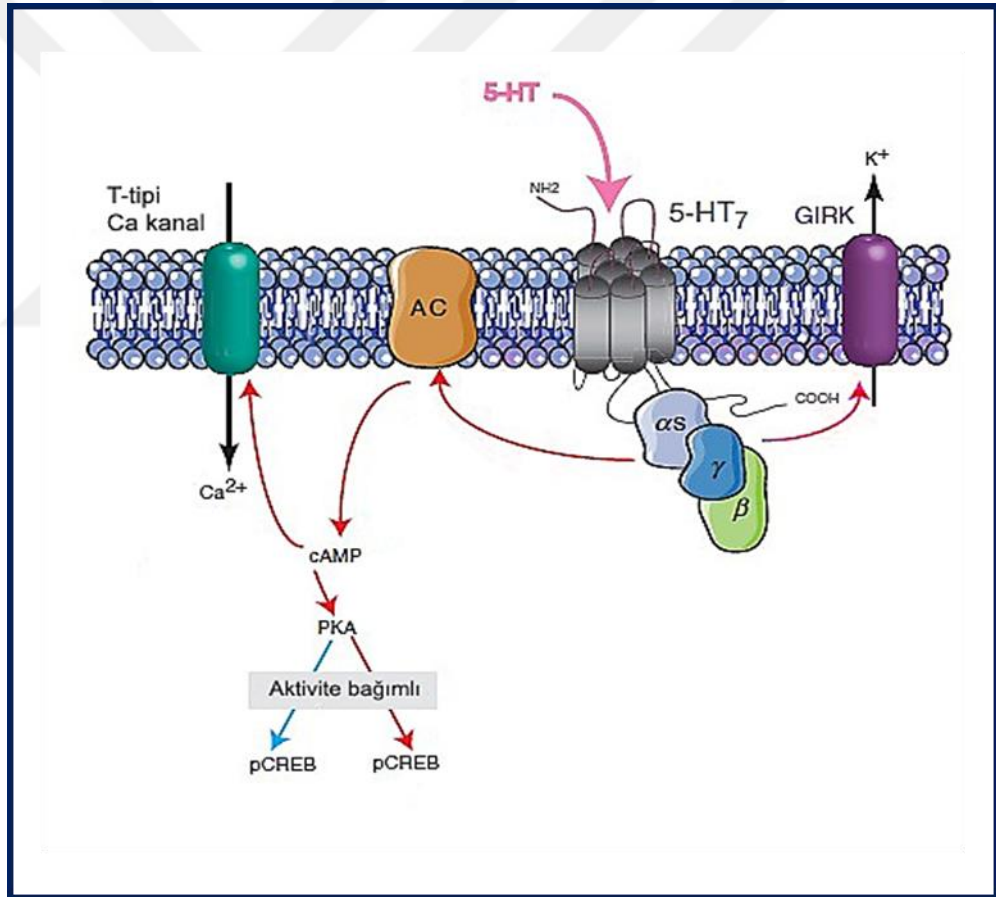
2.5.3. 5-HT₇ Reseptörleri

5-HT₇ reseptörü, 1993'te böbrek ve beyin dokularından klonlanan, serotonin reseptör ailesinin bir üyesidir (150). 5-HT₇ reseptörleri, insan, sıçan, fare, domuz, kobay faresi ve tavşan olmak üzere çeşitli türlerde klonlanmıştır (141). 5-HT₇ C-terminal hücre içi kuyruklarında (a), (b), (c) ve (e) olarak isimlendirilen farklı reseptör izoformlarına ayrılır (151).

5-HT₇ reseptörlerin aktivasyonu, G_{αs}'nin aracılığı ile adenilat siklaz aktivite artışına neden olur. Daha sonra cAMP artışı ile K⁺ ve Na⁺ iletkenliği modüle edilerek, nöronal depolarizasyon meydana gelir. Bunun dışında, 5-HT₇ reseptörlerin uyarılması Ca²⁺ akışını tetikler. Ayrıca, 5-HT₇ reseptörü, Rho familyasının küçük GTPazlarının (Rho, Rac ve Cdc42) aktivitesine neden olan G_{α12} proteinine bağlıdır. Hücre içi cAMP ve Ca²⁺ artışı, Ras'ı aktive eden, Ras guanin nükleotit değişim faktörünün (Ras-GRF1) mobilizasyonu yoluyla Ras-bağımlı ERK1/2 aktivasyonuna katkıda bulunur. 5-HT₇ reseptör stimülasyonu, sinaptik fonksiyon ve nöronal plastisite üzerine BDNF'nin etkilerine aracılı mitojen aktiviteli protein kinazı kontrol eden, ekstrasellüler sinyal regüle kinazları (ERK1 ve ERK2) aktivite eder. Hipokampal nöronlarda, cAMP bağımlı yol, protein kinaz A (PKA) aktivasyonu ile CREB ve ERK fosforilasyonunu indüklediği ve

astrozitoma hücrelerinde IL-6 sentezini uyararak, p38 MAPK'ı ve PKC'yi aktive ettiği gösterilmiştir (152) (Şekil 8).

MSS'de 5-HT₇ reseptörlerinin yaygın dağılımı birçok merkezi rolüne işaret eder. 5-HT₇ reseptörlerinin sirkadiyen ritim düzenlenmesinde, yaşa bağlı sirkadiyen değişiminde ve duygudurum bozukluklarında rol oynar. Aynı zamanda öğrenme ve bellek, uyku, termoregülasyon, vazomotrisite ve nosisepsiyonda anahtar rol oynamaktadır (133). Ayrıca, adrenal bezde 5-HT₇ reseptörü, 5-HT'nin indüklediği aldosteron salgısına da aracılık eder (141). Periferik olarak, 5-HT₇ reseptörü, progesteron üretimini uyardıkları granüloz-lutein hücrelerinde bulunur. 5-HT₇ reseptörü, periferik kan damarlarında, kolon sirküler düz kaslarında ve beyin arterlerinde (141) düz kas gevşemesine aracılık eder.



Şekil 8. 5-HT₇ reseptör sinyal yolağı (133). 5-HT₇ reseptörünün aktivasyonu, T-tipi kalsiyum kanalları aracılığıyla Ca²⁺ akışını tetikleyen cAMP oluşumunu uyarır. cAMP bağımlı yol, PKA'nın aktivasyonu ile CREB ve ERK fosforilasyonunu indükler. Kırmızı ok stimülasyonu ve mavi ok inhibisyonu gösterir (AC, adenilat siklaz; cAMP, siklik adenozin monofosfat; GIRK, G protein bağlı içeri doğrultucu potasyum kanalları; pCREP, fosforile cAMP cevap veren element bağılayıcı protein; PKA, protein kinaz A)

Spinal 5-HT₇ reseptörlerinin biyolojik rolü, 5-HT₇ reseptörlerinin anatomik dağılımı üzerine yapılan çalışmalara dayanır. 5-HT₇ reseptörleri beyinde iyi tanımlanmış olmasına rağmen, spinal kordda 5-HT₇ reseptörlerinin dağılımı da gösterilmiştir. İmmünohistokimyasal çalışmalar, 5-HT₇ reseptörlerinin, spinal kordun dorsal boynuzunda yüzeysel tabakalarda ve ara bölgelerde bulunduğunu ve spinal kordda hücrel ve hücre içi dağılımını göstermiştir (153, 154).

2.5.4. Serotonin Reseptörlerin Opioid Analjezisi Üzerine Etkileri

5-HT, spinal kordda nosiseptik transmisyonun önemli bir nöromodülatörüdür (14). Sistemik ve supraspinal opioid kullanımı spinal kordda 5-HT salınımını uyarır (21). Sistemik morfin kullanımı, dorsal kök nöronlarında ve nukleus akkumbenste ekstrasellüler 5-HT seviyesini artırır (155).

Sistemik morfin analjezisinde serotonerjik reseptör alt tiplerinin rolü tartışmalıdır. Morfin analjezik etkisi üzerine 5-HT reseptörleri farklı etki gösterir. 5-HT_{1A} reseptör antagonistinin spinal kullanımı, supraspinal morfinin antinosiseptif etkisini bloke etmiştir (17). 5-HT_{1A} ve 5-HT_{1B} reseptörleri, spinal ağrı regülasyonunda rol oynar (156).

Morfin verilmesi, omurilik nöronlarında 5-HT salınımını uyarır ve 5-HT'deki artış morfin analjezisini destekler. Fakat, nöropatik ağrı modelinde, spinal 5-HT₃ reseptör alt tipleri morfin analjezik etkisini azaltır (157). Bazı çalışmalarda, spinal 5-HT_{1A} (17) ve 5-HT₃ (21) reseptörlerinin bloke edilmesinin, sistemik morfinin antinosiseptif etkisini azalttığı gösterilirken, diğer çalışmalarda 5-HT_{1A} ve 5-HT₃ reseptörlerinin blokajı sistemik morfin antinosisepsiyonunu değiştirmemiştir (17).

Spinal ve supraspinal serotonerjik nöronlar, morfine karşı tolerans gelişiminde patofizyolojik bir rol oynar. Örneğin, fluoksetin, amitriptilin ve zimelidinin (selektif 5-HT uptake inhibitörleri) morfin ile birlikte uygulanması, morfin analjezik toleransını önlemektedir. Buna karşılık, 5-HT öncüsü olan L-triptofanla uygulanması, morfin tolerans gelişimini hızlandırır (158). Bu çelişkili bulgular, farklı sinapslardaki farklı 5-HT dansitesinin olması veya rafe magnustan kaynaklanan 5-HT nöronlarının farklı projeksiyonlarına bağlıdır (97).

Son deneysel çalışmalar, 5-HT₃ reseptörünün opioid antinosiseptif toleransına katıldığını göstermektedir. Morfin kullanımından sonra, selektif 5-HT₃ antagonistinin hem lokal hem de sistemik olarak uygulanmasının, opioid indüklü hiperaljeziyi

önleyebileceği gösterilmiştir. Morfin ile birlikte verilen 5-HT₃ antagonisti ondansetron, farelerde morfin toleransı önlemiştir (159). Morfin kullanımı ile 5-HT_{3A} reseptörlerinin ekspresyonunun arttığı ve morfin kullanımı sırasında ve öncesinde ondansetron kullanıldığı zaman morfine karşı gelişen toleransı önlediği bildirilmiştir (160).

5-HT₇ reseptörlerinin bloke edilmesinin, opioid analjezisini inhibe ettiği de bildirilmiştir (161). Ayrıca, 5-HT₇ reseptörlerinin aktivasyonu ile morfinin analjezik etki süresinin uzadığı gösterilmiştir (162). Bu bulgular opioid ile omurilikteki 5-HT reseptör alt tipleri arasında karmaşık bir etkileşim olduğunu göstermektedir.

Sistemik morfin indüklü artış, 5-HT seviyesinde spinal kordda inhibitör enkefalinergic ya da GABAergic internöronlar üzerinde lokalize olan 5-HT₇ reseptörlerini aktive eder ve primer afferent liflerin terminaline presinaptik ya da postsinaptik bölgelerde nosisepsiyonu inhibe eden GABA ve enkefalin salınımını uyarır (21). Sistemik olarak uygulanan morfinin, inen serotonergic yolları aktive ettiği ve omurilikteki 5-HT₇ reseptörlerinin sistemik morfin antinosisepsiyonunda önemli bir rol oynadığı görülmektedir (20).

2.6. HİPOTEZ

Opioidler, akut ve kronik ağrıyı tedavi etmek için klinikte kullanılan etkili analjezik maddelerdir. Ancak, uzun süre ve yüksek dozda kullanımı hızlı tolerans gelişimi gibi yan etkilere neden olmaktadır. Opioid maddelerin analjezik etkilerine karşı gelişen tolerans ile ilgili çok sayıda çalışma yapılmasına rağmen, oluşum mekanizması hala tam olarak açığa çıkarılmış değildir. Birçok nöromedyatör sistem ile tolerans mekanizması açıklanmaya çalışılmıştır. Bunlardan bir tanesi, son yıllarda üzerinde fazlaca çalışılan serotonerjik yolaktır. Serotonin reseptör sistemi, opioid analjezisine tolerans gelişiminde patofizyolojik bir rol oynar. Şimdiye kadar, birkaç çalışma bazı 5-HT reseptör alt tiplerinin opioid toleransı üzerinde farklı etkiler oluşturduğunu göstermektedir. Özellikle, 5-HT₁ reseptörünün morfin toleransına etkisi ile ilgili yapılan çalışmaların sayısı oldukça fazladır (163, 164). Fakat, 5-HT₃ ve 5-HT₇ reseptörlerinin morfin toleransı üzerine etkisini açıklayan ayrıntılı çalışmalara henüz rastlanılmamıştır.

Bu bilgiler ışığında bu çalışmada, serotonin 5-HT₃ ve 5-HT₇ reseptör agonist ve antagonistlerinin, morfin analjezi ve toleransı üzerine etkisinin analjezi testleri ve immünohistokimyasal yöntemler kullanarak araştırılması planlandı. Bu tez çalışmasının hipotezi, 5-HT₃ reseptör agonistinin morfin toleransı indükleyici ve 5-HT₇ reseptör agonistinin ise morfin tolerans gelişimini azaltıcı yönde etkili olabileceğidir.

Bu amaçla, sıçanlara 5-HT₃ ve 5-HT₇ reseptör agonist ve antagonistleri morfin ile birlikte verilerek morfin analjezisi üzerine etkilerinin termal analjezi testleri ile gösterilmesi planlandı. 5-HT₃ ve 5-HT₇ reseptörlerin dorsal kök gangliyonlarında ekspresyonları için immünohistokimyasal analiz yöntemi kullanılacaktır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Deney Hayvanları

Bu tez çalışması, Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı Araştırma Laboratuvarında etik kurul izni (Etik No: 2016/01) alındıktan sonra gerçekleştirildi. Çalışmada strese maruz kalmamış ve standarda uygun kafeslerde bakılan erişkin erkek 90 adet Wistar Albino sıçan kullanıldı. Cumhuriyet Üniversitesi Deney Hayvan Laboratuvarı'ndan elde edilen her biri yaklaşık 230-260 gram ağırlığında olan sıçanlar 22 ± 2 °C oda sıcaklığında, 12 saatlik aydınlık/karanlık döngünün sağlandığı, sesten yalıtılmış odada ve 53 ± 5 bağıl nem oranına sahip ortamda tutuldu. Yeterli ve uygun oranlarda beslenmeleri sağlanan deney hayvanlarıyla çalışmalar 09:00-15:00 saatleri arasında yapıldı, ışık ve ses düzeyi sürekli kontrol altında tutuldu.

3.2. Deney Grupları

5-HT₃ ve 5-HT₇ reseptör agonist ve antagonistlerinin morfin analjezisi ile morfin toleransına olan etkilerini ölçmek amacıyla her bir agonist ve antagonist için deney hayvanları rastgele seçildi ve gruplar aşağıdaki şekilde oluşturuldu (Tablo 5).

Tablo 5. Deney ve kontrol grupları

Sıra No	Gruplar	Hayvan Sayısı (n)
1	Salin	6
2	Morfin	6
3	Morfin Tolerant	6
4	1-Phenylbiguanide (5-HT ₃ agonisti)	6
5	Ondansetron (5-HT ₃ antagonisti)	6
6	AS 19 (5-HT ₇ agonisti)	6
7	SB 269970 (5-HT ₇ antagonisti)	6
8	1-Phenylbiguanide+Morfin	6
9	Ondansetron+Morfin	6
10	AS 19+Morfin	6
11	SB 269970+Morfin	6
12	1-Phenylbiguanide+Morfin tolerant	6
13	Ondansetron+Morfin tolerant	6
14	AS 19+Morfin tolerant	6
15	SB 269970+Morfin tolerant	6
Toplam Hayvan Sayısı		90

3.3. Kimyasallar ve Uygulama Şekilleri

Analjezik etkinliklerini belirlemek için selektif 5-HT₃ reseptör ligandları olan 5-HT₃ reseptör agonisti 1-phenylbiguanide (PBG) (Sigma-Aldrich, Almanya) 7,5 mg/kg dozda intraperitoneal (i.p.) ve 5-HT₃ reseptör antagonisti ondansetron (ODN) (Med Chem Express, NJ, USA) 2 mg/kg dozda subkutan olarak enjekte edildi (159, 165). Benzer şekilde, selektif 5-HT₇ reseptör ligandları olan 5-HT₇ reseptör agonisti AS-19 ((2S)-(+)-(1,3,5-trimethylpyrazolin-4-yl)-2-(dimethylamino) tetralin) (Tocris Bioscience, UK) 2,5 mg/kg dozda subkutan ve 5-HT₇ reseptör antagonisti SB-269970 ((2R)-1-[(3-hydroxyphenyl)sulfonyl]-2-[2-(4-methyl-1-piperidinyl)ethyl] pyrrolidine hydrochloride) (Cayman Chemicals, USA) 3 mg/kg dozda intraperitoneal olarak enjekte edildi (166, 167). Morfin ise (Morphine HCl, 0.01 gr 10 ampul, Galen İlaç, Türkiye) 5 mg/kg dozda subkutan olarak enjekte edildi.

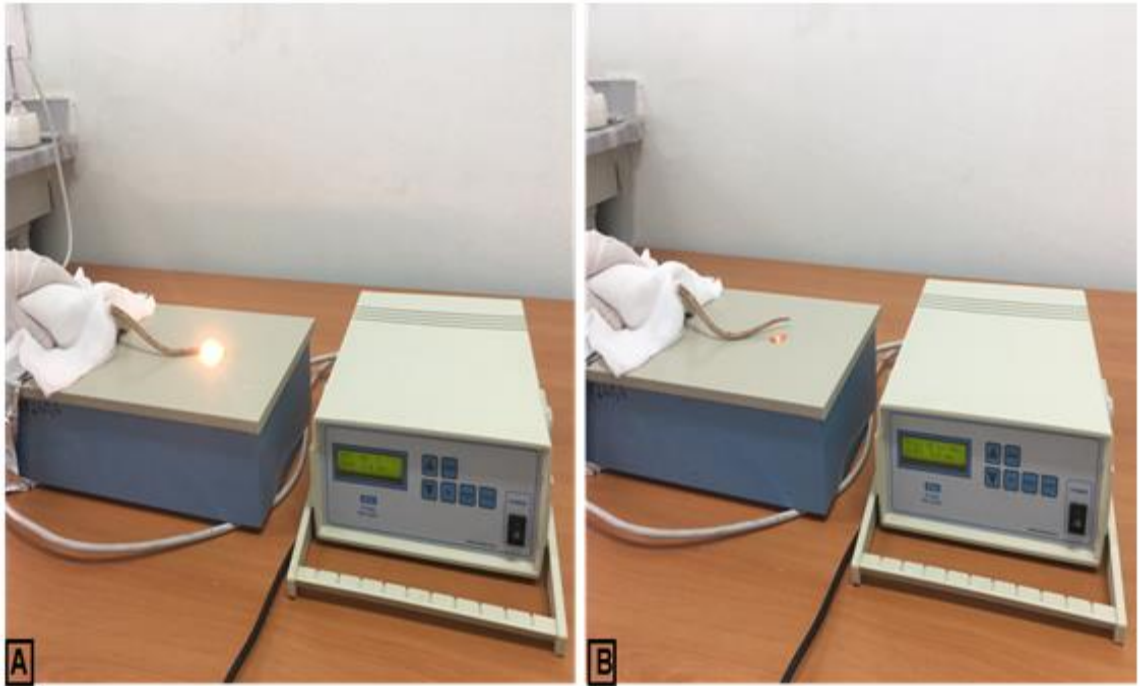
Kullanılan bütün kimyasalların enjekte edilmeden önce % 0,9'luk NaCl içerisinde çözeltileri hazırlandı. İlaçların ve solüsyonların dozlarını belirlemek için sıçanların

ağırlıkları ölçüldü. Daha sonra uygulanacak olan solüsyon hacimleri her bir sıçan için 100 gr vücut ağırlığı başına 0.1 ml olacak şekilde belirlendi.

3.4. Termal Analjezi Ölçümü

3.4.1. Tail-Flick Testi

Analjezik etkinin ölçümünde, termal analjezi test cihazı olan Tail-flick (May TF 0703 Tail-flick Unit, Commat, Türkiye) testi kullanıldı. Çoğunlukla spinal refleks ark aktivitesini gösteren bu ölçüm metodunda radyant ısı kaynağı sıçanların kuyruk ucundan yaklaşık 3 cm'lik kısma odaklanır ve daha sonra kuyruk çekme süresi (Tail-Flick Latency=TFL) saniye olarak kaydedilir (168). İnfrared yoğunluğu, bazal TFL $2,8\pm 0,4$ saniye olacak şekilde ayarlanır. Bazal TFL'si 2,4 saniye altında ve 3,2 saniye üstünde olan hayvanlar ile test sırasında 15 saniyeden daha uzun sürede kuyruğunu çekmeyen hayvanlar testlere alınmadı. Test kesme süresi (Cutoff Latency) doku hasarı oluşmaması için 15 saniye olarak kabul edildi (Şekil 9).



Şekil 9. Tail-flick testi. A) Test esnasında sıçan kuyruk uç kısmına radyant ısının verilmesi B) Sıçanda ısının hissedilmesi ile kuyruk çekme hareketi gelişimi

3.4.2. Hot-Plate Testi

Periferik ve merkezi analjezik etkinin ölçümü başka bir termal analjezi cihazı olan Hot-plate ile gerçekleştirildi. Bu testte hayvanların her biri test cihazına (May AHP 0603 Analgesic Hot-plate, Commat) yerleştirilir ve tabla yüzey sıcaklığı $55 \pm 0,5$ °C derece olacak şekilde ayarlanır. Isıtılmış yüzey bakır ya da alüminyumdan oluşur. Bu testte hayvanın ayağını ilk yalamaya başlama zamanı veya sıcak tabladan sıçrama süresi test latans süresi olarak kabul edilir. Test kesme süresi (cut-off time) sıçanın ayağında herhangi bir hasar oluşmaması için 30 saniye olarak kabul edildi (169). Tail-flick ölçümleri yapıldıktan 1 dakika sonra tüm hayvanlarda aynı aralıklarla hemen Hot-plate ölçümleri yapıldı (Şekil 10).



Şekil 10. Hot-plate testi. **A)** Pleksi kafese yerleştirilmiş sıçan resmi **B)** Sıçanın ayak tabanını tabladan çekme görüntüsü

Bütün ilaçların analjezik etkinliği 30 dakika aralıklarla (0, 30, 60, 90, 120 dakika) Tail-Flick ve Hot Plate testleri ile değerlendirildi.

3.4.3. Morfin Tolerans İndüksiyonu

Morfine karşı tolerans geliştirilmesi için, sıçanlara subkutan yoldan 3 gün süre ile günde bir defa 50 mg/kg morfin enjekte edildi ve 4. gün tek doz morfinden sonra tolerans değerlendirmesi yapıldı (170). Morfin, test dozu olan 5 mg/kg dozunda hayvana verilerek analjezik etki Tail-flick ve Hot-plate testleri ile ölçüldü.

3.4.4. Analjezi Ölçüm Verilerinin Analizi

Analjezi test ölçümlerinde hayvanların saniye olarak kuyruk çekme sürelerinin maksimal potent etki düzeyinin yüzdeye (% MPE) dönüştürülmesi aşağıdaki eşitlik ile sağlandı. Analjezik etkinlik, tüm gruplarda ölçülen % MPE değerlerinin ortalaması alınarak değerlendirildi.

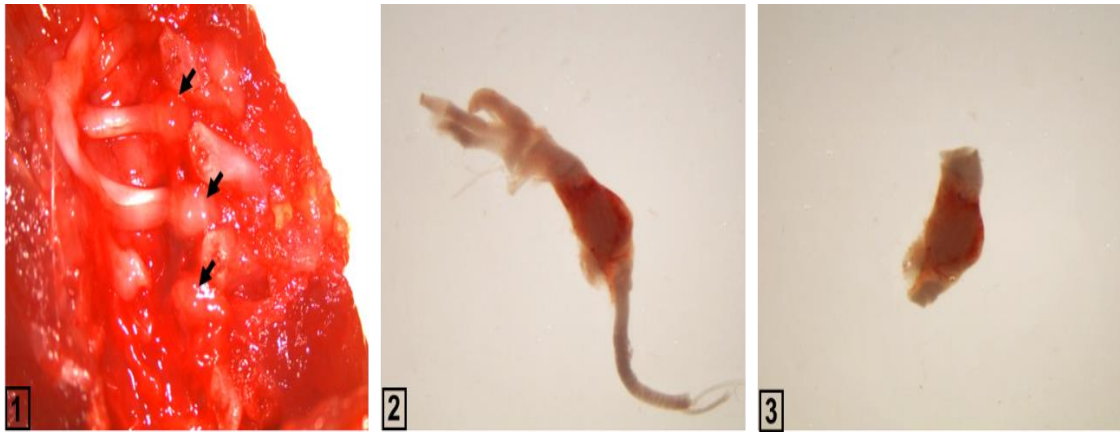
$$\%MPE = \frac{\text{İlaç Sonrası Reaksiyon Zamanı} - \text{İlaç Öncesi Reaksiyon Zamanı}}{\text{Test Kesme Süresi} - \text{İlaç Öncesi Reaksiyon Zamanı}} \times 100$$

3.5. Histolojik Analizler

Tüm gruplara ait sıçanlar, termal analjezi ölçümleri yapıldıktan sonra dorsal kök gangliyonu izolasyonu için servikal dislokasyon ile sakrifiye edildi. Önce küçük bir makasla vertebral kolon ayrıldı, daha sonra kaudal uçtan başlayarak boyuna kadar spinal kolonun içi yaylı küçük bir makasla açıldı (Şekil 11). Bu yolla izole edilmiş olan spinal kolon petri kutularına yerleştirildi ve PBS (Phosphate buffered saline) tamponu ile 3 defa yıkandı. Spinal kord kısımları disekte edildi. Daha sonra stereo diseksiyon mikroskobu (Leica, EZ4D) altında forsepslerle bütün dorsal kök gangliyonları hassas bir şekilde izole edilerek küçük bir petri kutusu içerisine alındı (Şekil 12).



Şekil 11. Sıçanlardan dorsal kök gangliyonu izole edilmesi **1)** Dekapite edilmiş sıçan **2-3)** Vertebral kolon görüntüsü **4-5)** Vertebral kolonun küçük parçalara ayrılarak spinal kolonun disekte edilmesi **6)** Stereo mikroskop altında izole dorsal kök gangliyonları. Dorsal kök gangliyonu görüntüsü ok ile işaretlenmiştir (10X).



Şekil 12. Stereo diseksiyon mikroskopunda dorsal kök gangliyonu görüntüsü **1)** Vertebral kolonda yerleşik ok ile işaretli dorsal kök gangliyonları **2)** Çıkarılmış tek bir dorsal kök gangliyonu **3)** Sinir dokularından temizlenmiş tek bir dorsal kök gangliyonu (10X)

Elde edilen dokular, total histopatolojik inceleme için %10'luk tamponlanmış nötral formalin içinde fikse edilip yıkandıktan sonra derecesi yükselen alkol serilerinden (%70, %80, %90 ve %100) ve 3'lü ksilen serilerinden geçirildi ve temiz parafine gömme uygulandı. Üzerinde rutin histolojik doku takipleri yapıldıktan sonra mikrotom (Leica SM 2000R) ile alınan 5 mikronluk kesitler jelatin kaplı lamlara alındı ve bir gece 56°C'de inkübe edildi. Morfolojik değerlendirme için alınan kesitler, rutin histolojik prosedür uygulaması ile Mayer'in hematoxileni ve eosin boyamasına tabi tutularak incelendi.

3.5.1. İmmünohistokimyasal Analiz

Kontrol ve çalışma gruplarına ait kesitlerde, dehidrasyon ve deparafinizasyon sonrası rutin immünohistokimyasal teknikler kullanılarak 5-HT₇ ve 5-HT_{3A} reseptör ekspresyonları belirlendi. Alınan kesitlerin endojen peroksidaz aktivitesi %3'lük H₂O₂ ile bloke edildi ve mikrodalga fırında 10 mM sodyum sitrat tamponu (pH: 6) içerisine alınıp epitoplara açığa çıkarılması sağlandı. Spesifik olmayan bağlanmaları engellemek amacıyla protein blokajı yapıldı ve daha sonra kesitlere 5-HT_{3A} (Rabbit polyclonal 5-HT_{3A} antibody, Abcam, 5 µg/ml) ve 5-HT₇ (Rabbit polyclonal 5-HT₇/SR-7, Bioss, 1:300) primer antikoları uygulandı. Devamında sırasıyla sekonder antikor, streptavidin peroksidaz kompleksi (ScyTek, ABD) ve kromojen uygulanarak 5-HT₇ ve 5-HT_{3A} ekspresyonları belirlendi. Negatif kontroller için, kesitler primer antikorla benzer konsantrasyonda PBS ile inkübe edildi. Boyanan kesitler Leica mikroskop (Leica DM2500, Nussloch, Almanya) altında fotoğraflandırdı. Negatif kontrollerde herhangi bir boyanma görülmedi.

3.5.2. Semiquantitative H-Score analizi

Her bir kesit için ışık mikroskobu altında 40X büyütmede rastgele beş alan seçildi ve her bir grupta yaklaşık 2000 nöron sayımı yapıldı. Proteinlerin ekspresyon yoğunluklarının immünohistokimyasal olarak belirlenmesi için hücreler boyanmanın yoğunluğuna göre 4 ayrı kategoride sınıflandırıldılar:

- 0° (boyanma yok)
- 1° (zayıf, fakat tespit edilebilir boyanma)
- 2° (orta şiddetli boyanma)
- 3° (yoğun boyanma)

Hesaplama için H-Score formülü kullanıldı. H-Score, çeşitli membran reseptörlerine uygulanabilen nükleer immünoaktivite derecesini değerlendirmek için kullanılan bir yöntemdir. Skorlama formülle elde edilir ($\sum P_i (i+1) = [(0 \times 0^\circ \text{boyanan hücreler}) + (1 \times 1^\circ \text{boyanan hücreler}) + (2 \times 2^\circ \text{boyanan hücreler}) + (3 \times 3^\circ \text{boyanan hücreler})]$) (i boyanma yoğunluğu skorunu, P_i boyanan hücrelerin sayısını gösterir) (171, 172). Skor, 0 ile 300 aralığında bir değer verir. Hesaplanan skorların ortalaması alındı ve H-Score değerleri grafikte gösterildi.

3.6. İstatistiksel Değerlendirme

Tüm veriler, SPSS istatistik programı (SPSS for Windows vers. 22) kullanılarak varyans analizi (Oneway ANOVA) ile test edildi ve daha sonra gruplar arası farkın hangi gruptan kaynaklandığı post-hoc Tukey testi ile belirlendi. Analjezi test ölçümünde, 5-HT₃ ve 5-HT₇ agonist ve antagonist verilen grupların % MPE ortalama değerlerinin gruplar arası farkları, morfin uygulanan ve morfin tolerant oluşturulan gruplar arasında karşılaştırıldı. 5-HT₃ ve 5-HT₇ agonist ve antagonist uygulanan grupların H-Score ortalama değeri ise morfin ve morfin tolerant gruplarına göre karşılaştırıldı. Bütün deneysel sonuçlar ortalama \pm SH (ortalamanın standart hatası) olarak ifade edildi. İstatistiksel anlamlılık düzeyi p<0,05 olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. Morfinin Doza Bağı Analjezik Etkileri

Morfinin etkin dozunu belirlemek için analjezi testlerinin sonuçları analjezik etkinin maksimal olarak 60. dakika ölçümlerinde ve 5 mg/kg test dozunda (TF: 64,09±5,33 ve HP: 68,87±4,74) olduğunu göstermiştir. 5 mg/kg dozda morfin verilen grubun ortalama % MPE değerleri salin grubu (TF: 8,47±1,02 ve HP: 16,44±1,33) ile karşılaştırıldığında aradaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edildi ($p<0,01$) (Tablo 6).

Tablo 6. Morfinin doza bağı analjezik etkileri

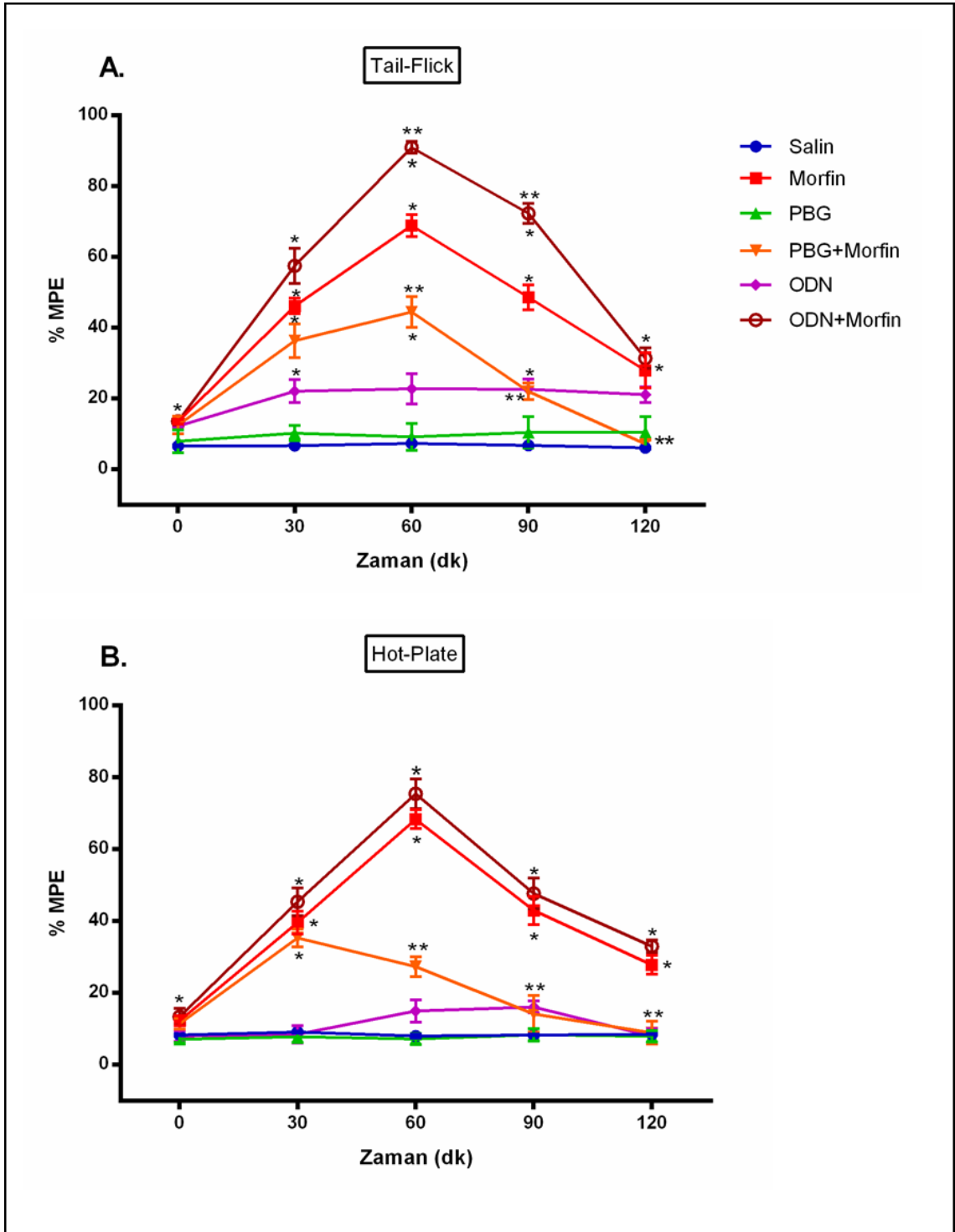
Zaman (dk)	0	30	60	90	120
<i>Tail-flick</i>					
Salin	6,45±0,91	7,63±0,96	8,47±1,02	6,79±0,98	5,99±0,88
Morfin (2,5 mg/kg)	5,82±0,95	34,60±1,90*	50,32±3,75*	48,78±3,88*	34,38±2,87*
Morfin (5 mg/kg)	6,41±0,83	39,42±3,95*	64,09±5,33**	54,34±4,12**	42,36±3,87*
Morfin (10 mg/kg)	8,09±1,09	45,56±4,09*	61,79±5,02**	57,38±3,95**	45,60±3,83*
<i>Hot-plate</i>					
Salin	12,42±1,47	12,42±1,13	16,44±1,33	11,62±1,08	13,18±1,32
Morfin (2,5 mg/kg)	13,79±1,23	35,56±2,84*	54,45±4,15*	37,50±3,22*	32,38±2,56*
Morfin (5 mg/kg)	13,31±1,60	41,29±3,98*	68,87±4,74**	41,98±4,53*	36,31±3,87*
Morfin (10 mg/kg)	14,87±1,54	43,46±3,73*	67,06±4,71**	45,14±4,28*	39,08±3,86*

Analjezik etkiler % MPE ve veriler ort. ± SH olarak ifade edilmiştir. * $p<0,05$; ** $p<0,01$ salin grubuna göre karşılaştırıldığında (n= 6).

4.2. Ondansetron ve 1-Phenylbiguanide'in Morfin Analjezisi Üzerine Etkileri

Çalışmamızda 5-HT₃ agonisti 1-Phenylbiguanide (PBG) grubunun tüm dakika analjezi ölçüm ortalama değerleri (% MPE) salin grubu ile karşılaştırıldığında fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0,05$). 5-HT₃ antagonisti ondansetron (ODN) uygulanan grubun ise 30. dakika (TF: 22,08±3,23 ve HP: 8,48±2,39) ve 90. dakika (TF: 22,61±2,92 ve HP: 16,09±1,67) ortalama % MPE değerleri, salin grubu 30. dakika (TF: 6,73±0,28 ve HP: 9,13±0,26) ve 90. dakika (TF: 6,75±0,25 ve HP: 8,30±0,18) değerleri ile karşılaştırıldığında sadece tail-flick (TF) testinde istatistiksel olarak anlamlı analjezik etki oluşturdu (TF, $F_{5,24}$: 14,45; HP, $F_{5,24}$: 6,87; $p<0,05$) (Şekil 13).

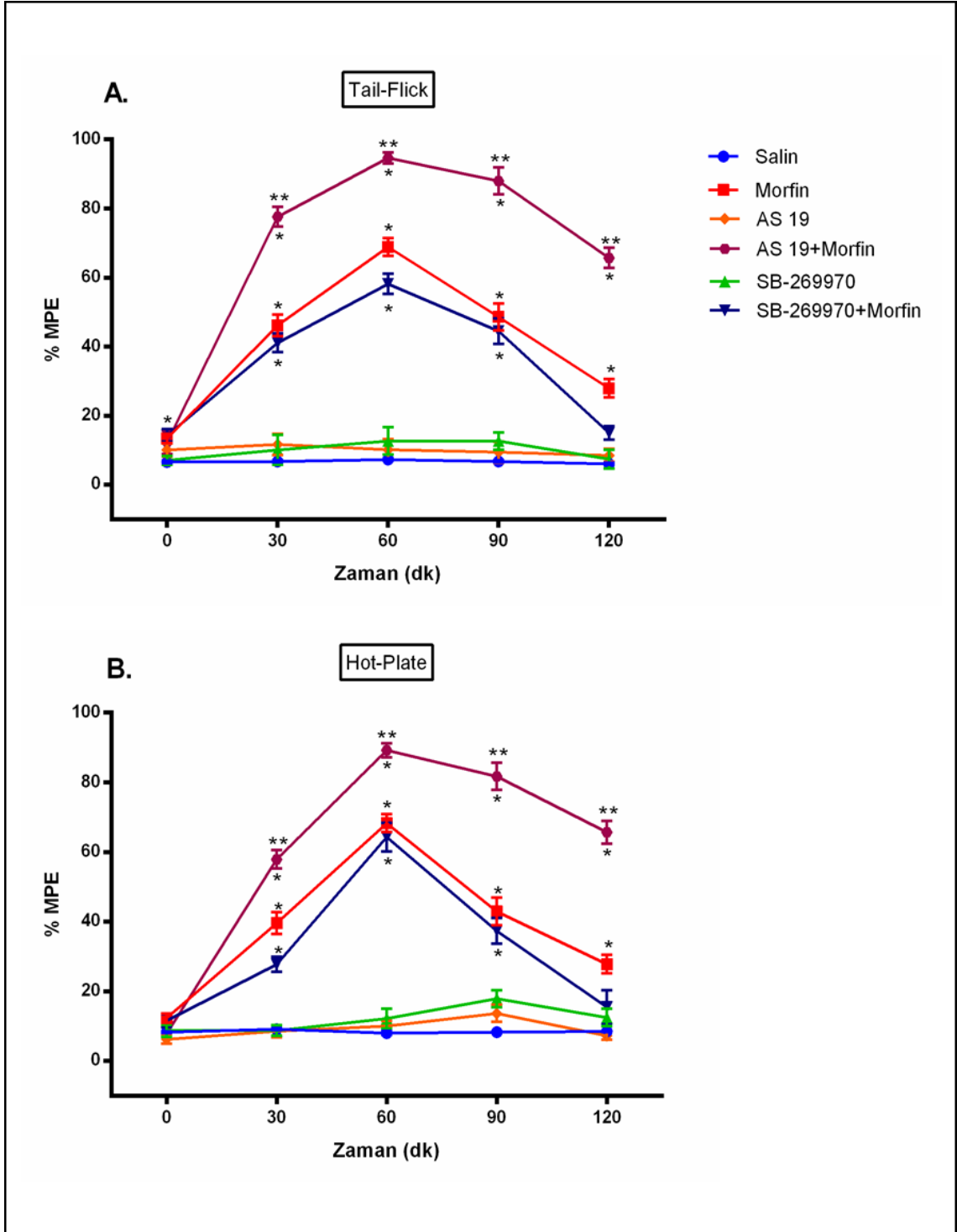
PBG+Morfin grubun 60. dakikadaki ortalama % MPE değerleri (TF: 44,47±4,37 ve HP: 27,32±2,74), salin grubu (TF: 7,33±0,23 ve HP: 8,01±0,22) ile karşılaştırıldığında aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu (TF, $F_{5,24}$: 21,27; HP, $F_{5,24}$: 13,54; $p<0,05$) (Şekil 13). PBG+Morfin grup, 60. dakikadaki morfin grubu değerleri (TF: 68,88±3,10 ve HP: 68,30±2,62) ile karşılaştırıldığında, morfine göre analjezik etkinliğin anlamlı olarak azaldığı tespit edildi ($p<0,05$). Ayrıca, PBG+Morfin grubun 90. dakika (TF: 22,04±2,36 ve HP: 14,19±5,13) ve 120. dakika (TF: 7,20±1,09 ve HP: 8,94±3,17) değerleri ile morfin grup 90. dakika (TF: 48,61±3,52 ve HP: 42,94±3,93) ve 120. dakika (TF: 27,94±4,97 ve HP: 27,81±2,62) değerleri karşılaştırıldığında aradaki fark istatistiksel olarak anlamlıydı ($p<0,05$). PBG+Morfin grubun 60. dakikadan itibaren morfinin analjezik etkinliğini hem TF hem de HP testinde azalttığı görüldü. ODN+Morfin grubun 60. dakikadaki analjezik etkinliği (TF: 90,96±1,70 ve HP: 75,40±4,12) maksimal düzeye ulaştı ve morfin grubuna göre TF testinde analjezik etkinlik istatistiksel olarak anlamlı arttı ($p<0,05$). ODN+Morfin grubun 90. dakikadaki ortalama % MPE değerleri (TF: 72,34±2,83 ve HP: 47,67±4,32) ile morfin grup değerleri (TF: 48,61±3,52 ve HP: 42,94±3,93) karşılaştırıldığında ise analjezik etkinliğin sadece TF testinde anlamlı arttığı görüldü ($p<0,05$). ODN+Morfin grubun 60. dakikadaki % MPE değerleri, salin grubuna göre anlamlı oranda arttı ($p<0,05$). Benzer şekilde, ODN+Morfin grubun 30. dakika (TF: 57,50±4,97 ve HP: 45,35±3,84), 90. dakika (TF: 67,35±2,83 ve HP: 47,67±4,32) ve 120. dakika (TF: 31,39±2,88 ve HP: 32,97±1,72) ortalama % MPE değerleri, salin grubu 30. dakika (TF: 6,73±0,28 ve HP: 9,13±0,26), 90. dakika (TF: 6,75±0,25 ve HP: 8,30±0,18) ve 120. dakika (TF: 6,08±0,27 ve HP: 8,48±0,14) değerleri ile karşılaştırıldığında aradaki fark her iki testte de istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0,05$). ODN+Morfin grubun analjezik etkinliği 60. dakikadan itibaren sadece TF testinde arttığı görüldü.



Şekil 13. PBG ve ODN'nin morfin analjezi üzerine etkileri. **A.** Tail-flick testinde PBG ve ODN'nin morfin analjezi üzerine etkileri **B.** Hot-plate testinde PBG ve ODN'nin morfin analjezi üzerine etkileri. Analjezik etkiler % MPE ve veriler ort. \pm SH olarak ifade edildi. * $p < 0,05$ salin grubuna göre karşılaştırıldığında, ** $p < 0,05$ morfin grubuna göre karşılaştırıldığında istatistiksel fark ($n = 6$) (ODN, Ondansetron; PBG, 1-Phenylbiguanide).

4.3. AS 19 ve SB-269970'in Morfin Analjezi Üzerine Etkileri

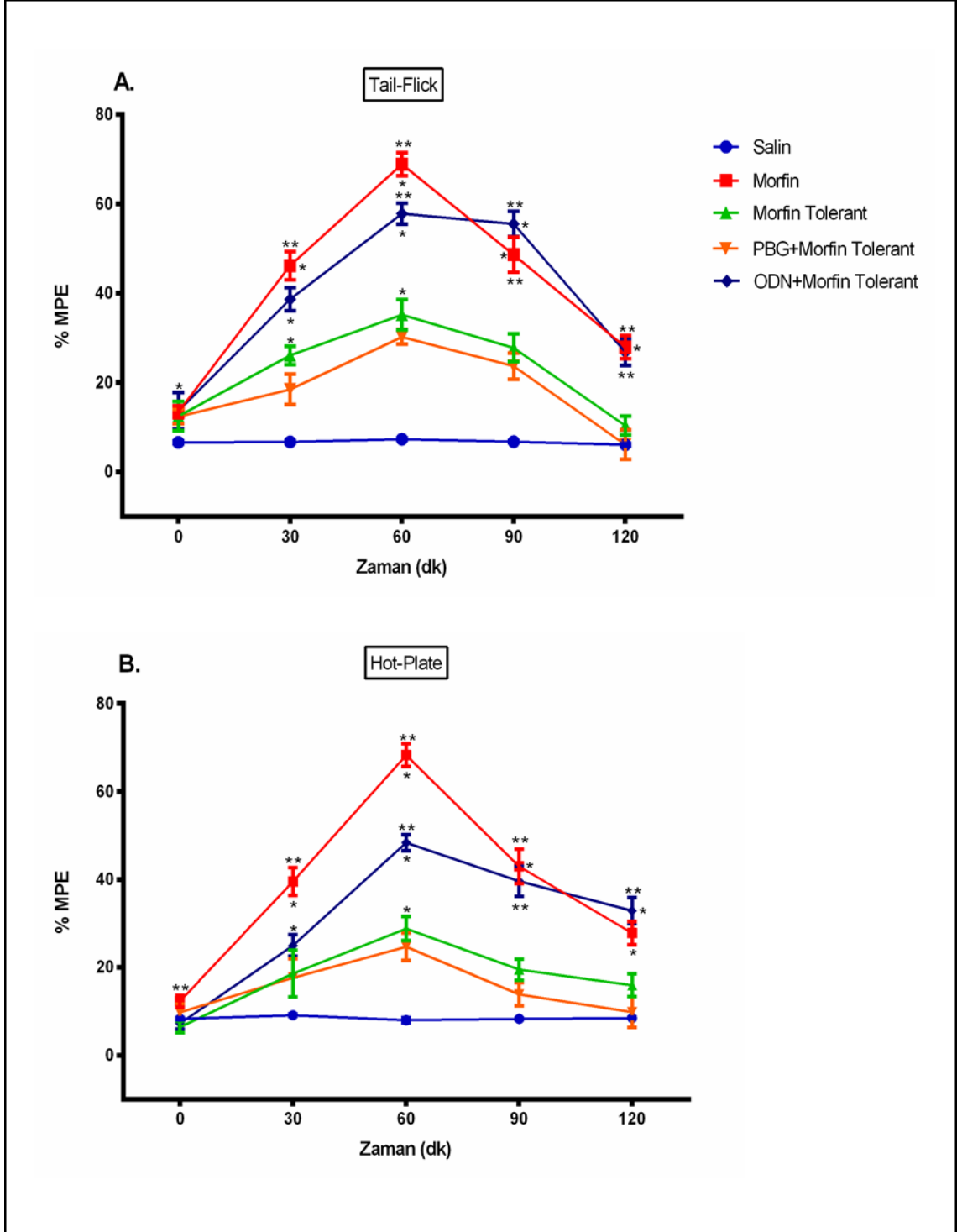
5-HT₇ agonisti AS 19+Morfinin grubun 60. dakikadaki ortalama % MPE değerleri (TF: 94,69±1,61 ve HP: 89,22±2,07) maksimal etkiye ulaştı ve morfin grubuna göre (TF: 68,88±3,10 ve HP: 68,30±2,62) istatistiksel olarak anlamlı oranda arttığı görüldü (TF, F_{5,24}: 18,97; HP, F_{5,24}: 26,65; p<0,05) (Şekil 14). Benzer şekilde, tüm ölçüm dakikalarında AS 19+Morfin grubun analjezik etkinliği, morfin grubuna göre fazla olduğu bulundu. Bu grubun 30. dakika (TF: 77,62±2,87 ve HP: 57,92±2,68), 90. dakika (TF: 88,01±3,91 ve HP: 81,74±3,95) ve 120. dakika (TF: 65,71±2,94 ve HP: 65,69±3,26) ortalama % MPE değerleri, morfin grubu 30. dakika (TF: 46,17±2,15 ve HP: 39,56±3,15), 90. dakika (TF: 48,61±3,52 ve HP: 42,94±3,93) ve 120. dakika (TF: 27,94±4,97 ve HP: 27,81±2,62) değerleri ile karşılaştırıldığında aradaki fark istatistiksel olarak anlamlıydı (TF, F_{5,24}: 20,45; HP, F_{5,24}: 22,06; p<0,05). AS 19+Morfin grubun 30. dakikada analjezik etkinliğini göstermeye başladığı ve 60, 90 ve 120 dakika boyunca analjezik etkinliğin her iki testte devam ettiği görüldü. 5-HT₇ antagonisti SB-269970+Morfin grubun (TF: 58,18±2,88 ve HP: 64,29±4,14) 60. dakikada maksimal düzeye ulaşan ortalama % MPE değerleri, salin grubu (TF: 7,33±0,23 ve HP: 8,01±0,22) ile karşılaştırıldığında aradaki fark istatistiksel olarak anlamlıydı (p<0,05). Fakat, SB-269970+Morfin grubun analjezik etkinliği olmasına rağmen, morfin verilen gruba göre TF ve HP testlerinde anlamlı fark görülmedi (p>0,05). SB-269970+Morfin grubun 30. dakika (TF: 41,11±2,74 ve HP: 27,72±2,15) ve 90. dakika (TF: 44,51±3,70 ve HP: 37,36±3,64) değerleri, salin grubu 30. dakika (TF: 6,73±0,28 ve HP: 9,13±0,26) ve 90. dakika (TF: 6,75±0,25 ve HP: 8,30±0,18) % MPE değerleri ile karşılaştırıldığında aradaki farkın anlamlı olduğu tespit edildi (p<0,05). SB-269970+Morfin grubun morfin analjezik etkisine etki etmediği görüldü.



Şekil 14. AS 19 ve SB-269970'in morfin analjezi üzerine etkileri. **A.** Tail-flick testinde AS 19 ve SB-269970'in morfin analjezi üzerine etkileri **B.** Hot-plate testinde AS 19 ve SB-269970'in morfin analjezi üzerine etkileri. Analjezik etkiler % MPE ve veriler ort. \pm SH olarak ifade edildi. * $p < 0,05$ salin grubuna göre karşılaştırıldığında, ** $p < 0,05$ morfin grubuna göre karşılaştırıldığında istatistiksel fark ($n = 6$).

4.4. Ondansetron ve 1-Phenylbiguanide'in Morfin Toleransı Üzerine Etkileri

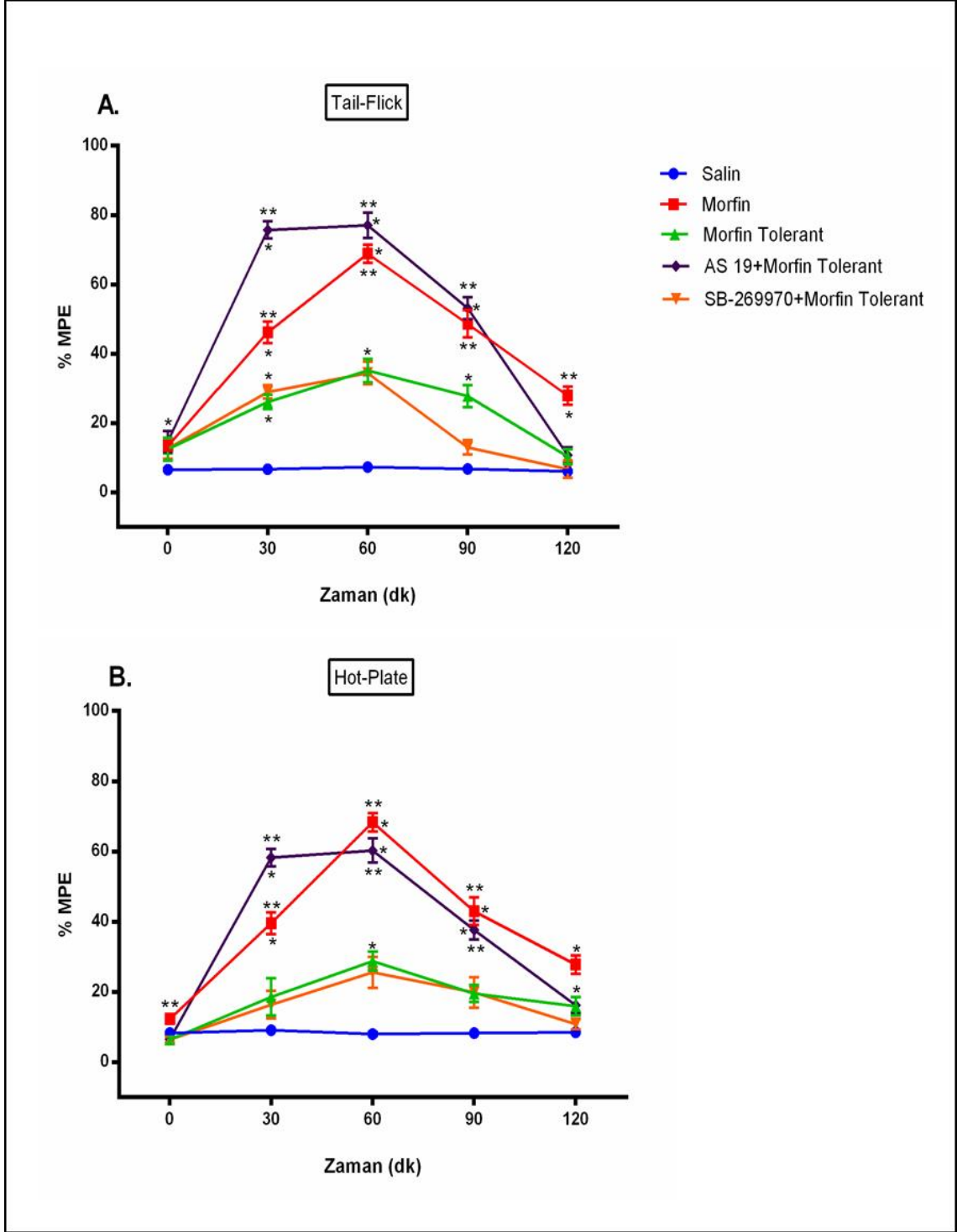
Morfine karşı tolerans geliştirilen 5-HT₃ reseptör agonisti PBG+Morfin tolerant grubunun ortalama % MPE değerleri, morfin tolerant grubu ile karşılaştırıldığında fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0,05$; Şekil 15). Buna karşın, tolerant sıçanlara 5-HT₃ reseptör antagonisti ODN verilen gruptaki 60. dakikada ölçümlerindeki ortalama % MPE değerleri (TF: $57,8\pm 2,36$ ve HP: $49,38\pm 1,83$), morfin tolerant grubuna (TF: $35,17\pm 3,42$ ve HP: $28,80\pm 2,74$) göre anlamlı oranda arttı (TF, $F_{4,20}$: 8,25; HP, $F_{4,20}$: 10,66; $p<0,05$). Ayrıca, ODN+Morfin tolerant grubun 90. dakika (TF: $55,5\pm 2,84$ ve HP: $39,59\pm 3,43$) ve 120. dakika (TF: $26,79\pm 3,03$ ve HP: $32,90\pm 2,95$) ortalama % MPE değerleri, morfin tolerant 90. dakika (TF: $27,77\pm 3,15$ ve HP: $19,52\pm 2,41$) ve 120. dakika (TF: $10,35\pm 2,10$ ve HP: $15,92\pm 2,60$) değerleri ile karşılaştırıldığında da analjezik etkinliğin anlamlı olarak arttığı görüldü (TF, $F_{4,20}$: 7,07; HP, $F_{4,20}$: 4,51; $p<0,05$). PBG+morfin tolerant grubunda, PBG'nin morfine karşı gelişen toleransı engellemediği, ODN+morfin tolerant grubunda ise ODN'nin 60. dakikadan itibaren morfin tolerans gelişimini önlediği gözlemlendi.



Şekil 15. PBG ve ODN'nin morfin tolerans üzerine etkileri. **A.** Tail-flick testinde PBG ve ODN'nin morfin tolerans üzerine etkileri **B.** Hot-plate testinde PBG ve ODN'nin morfin tolerans üzerine etkileri. Analjezik etkiler % MPE ve veriler ort. \pm SH olarak ifade edildi. * $p < 0,05$ salin grubuna göre karşılaştırıldığında, ** $p < 0,05$ morfin tolerant grubuna göre karşılaştırıldığında istatistiksel fark ($n = 6$) (ODN, Ondansetron; PBG, 1-Phenylbiguanide).

4.5. AS 19 ve SB-269970'in Morfin Toleransı Üzerine Etkileri

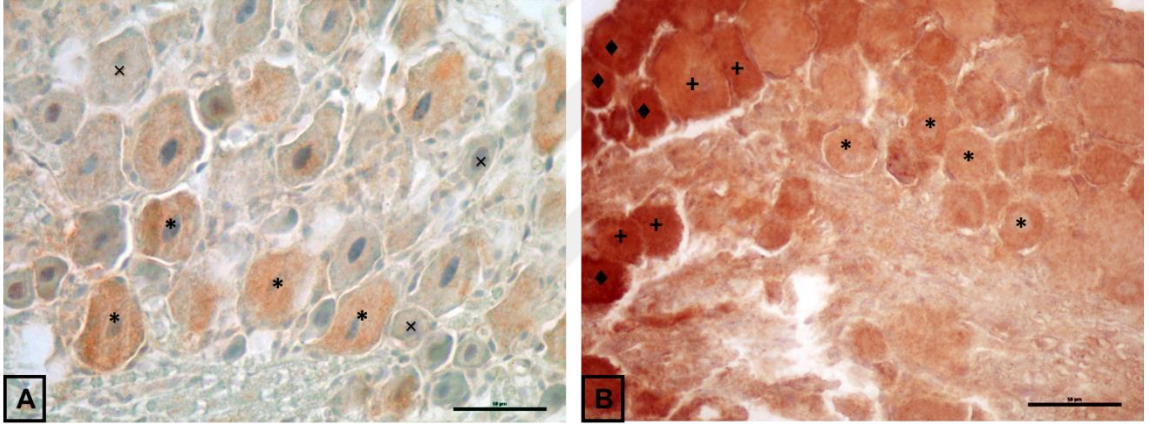
Morfin tolerans indüksiyonu yapılan 5-HT₇ reseptör agonisti AS 19+Morfin tolerant grubun 60. dakikadaki % MPE değerleri (TF: 77,07±3,61 ve HP: 60,30±3,48) maksimal düzeye ulaştı ve morfin tolerant grup (TF: 35,17±3,42 ve HP: 28,80±2,74) ile karşılaştırıldığında analjezik etkinin istatistiksel olarak anlamlı arttığı görüldü (TF, F_{4,20}: 9,11; HP, F_{4,20}: 11,92; p<0,05) (Şekil 16). Ayrıca, AS 19+Morfin tolerant grubun 30. dakika (TF: 75,73±2,49 ve HP: 58,27±2,47) ve 90. dakika (TF: 53,14±3,20 ve HP: 37,63±2,75) ortalama % MPE değerleri, morfin tolerant grubun 30. dakika (TF: 26,08±2,05 ve HP: 18,60±5,30) ve 90. dakika (TF: 27,77±3,15 ve HP: 19,52±2,41) değerlerine göre anlamlı olarak artış gösterdi (TF, F_{4,20}: 13,56; HP, F_{4,20}: 9,24; p<0,05). Analjezi testlerinde 5-HT₇ antagonist SB-269970+Morfin tolerant grubun 60. dakikadaki % MPE değerleri (TF: 34,42±3,21 ve HP: 25,27±4,40), morfin tolerant grubun değerleri (TF: 35,17±3,42 ve HP: 28,80±2,74) ile karşılaştırıldığında aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi (p>0,05). SB-269970+Morfin tolerant grubun 30. dakikada (TF: 29±1,94 ve HP: 16,36±3,96) analjezik etkinliği, salin grubu % MPE değerleri (TF: 6,73±0,28 ve HP: 9,13±0,26) ile karşılaştırıldığında, sadece TF testinde istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu görüldü (p<0,05). SB-269970+Morfin tolerant grupta morfine karşı gelişen toleransın önlenemediği, AS 19+Morfin tolerant grubunda ise AS 19'un 30. dakikadan itibaren morfin tolerans gelişimini engellediği tespit edildi.



Şekil 16. AS 19 ve SB-269970'in morfin toleransı üzerine etkileri. **A.** Tail-flick testinde AS 19 ve SB-269970'in morfin toleransı üzerine etkileri **B.** Hot-plate testinde AS 19 ve SB-269970'in morfin toleransı üzerine etkileri. Analjezik etkiler % MPE ve veriler ort. \pm SH olarak ifade edildi. * $p < 0,05$, salin grubuna göre karşılaştırıldığında; ** $p < 0,05$, morfin tolerat grubuna göre karşılaştırıldığında istatistiksel fark (n= 6)

4.6. İmmünohistokimyasal Bulgular

Histolojik analizlerin elde edilmesi için sıçanlardan alınan dorsal kök gangliyon ve spinal kord doku kesitleri Hematoksilen-Eozin ile boyandı ve ışık mikroskopunda genel morfolojik yapıları incelendi. Dorsal kök gangliyonlarından 5-HT₃ ve 5-HT₇ reseptör ekspresyonları immünohistokimyasal analiz ile belirlendi. Her bir grupta bu reseptör proteinlerin immün boyanma ortalama H-Score değerleri hesaplandı. İmmünohistokimyasal analiz ile skorlama için hücreler boyanma şiddeti ve yoğunluklarına göre sayılarak 4 ayrı kategoride sınıflandırıldı. Negatif kontrol kesitlerinde herhangi bir boyanma görülmedi (Şekil 17).

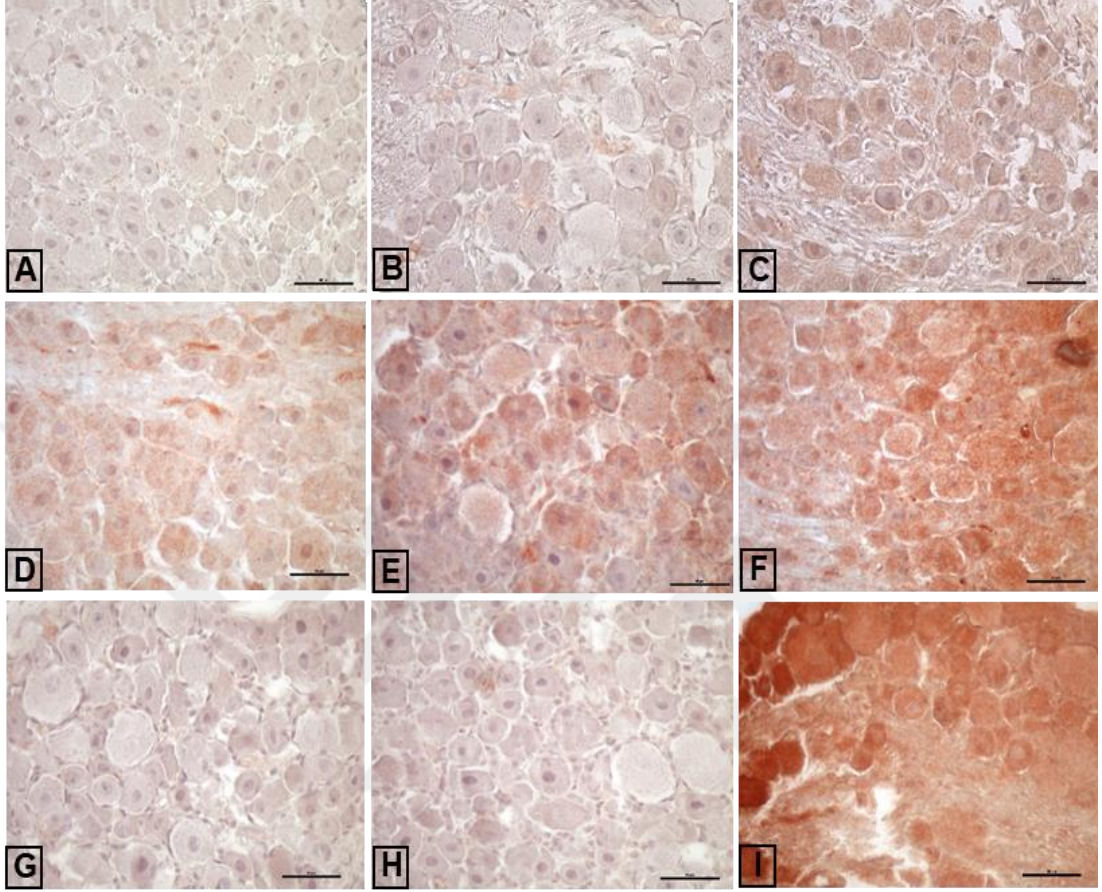


Şekil 17. Dorsal kök gangliyon nöronlarında immünohistokimyasal boyanma skorlaması. **A)** 5-HT₃ reseptörü ekspresyonunun belirlendiği dorsal kök nöron hücrelerinin temsili sayım alanlarından alınan immünoreaktivite göstermeyen ve zayıf immünoreaktivite gösteren hücreler **B)** Orta derecede ve güçlü immünoreaktivite gösteren hücrelerin görüntüsü. H-Score derecelendirmesi boyanma şiddeti ve yoğunluklarına göre değerlendirildi: İmmünoreaktivite yok, x; zayıf immünoreaktivite, *; orta immünoreaktivite, +; güçlü immünoreaktivite, ♦ (X40 obj).

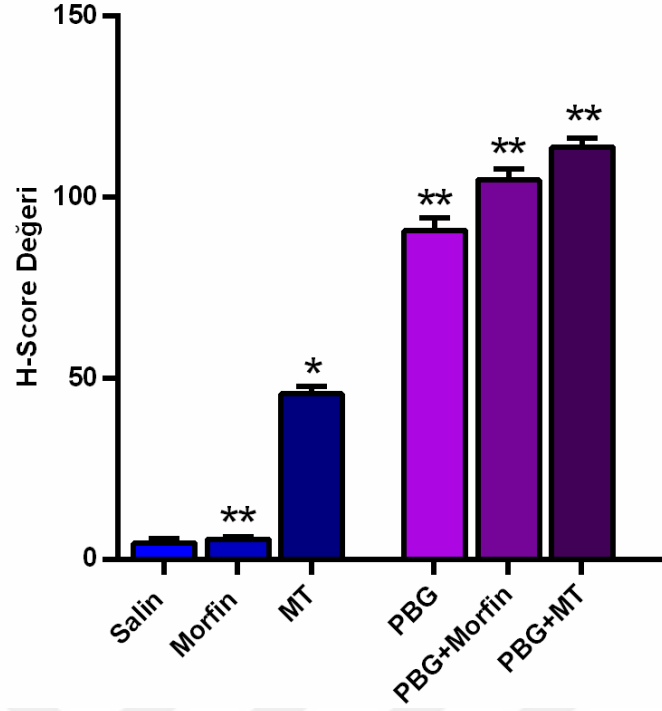
4.6.1. 5-HT₃ Ekspresyonunun Belirlenmesi

Analjezi testleri gerçekleştirildikten sonra elde edilen dokulardan alınan kesitlerde 5-HT₃ ekspresyonunun belirlenmesi için yapılan immünohistokimyasal analiz sonucunda, dorsal kök gangliyonlarında 5-HT₃ immünoaktivitesinin morfin tolerant grubunda, salin ve morfin grubuna kıyasla daha fazla arttığı görüldü (Şekil 18). Salin ve morfin grubu 5-HT₃ immünoaktivitesinde artış saptanmadı. PBG, PBG+Morfin, PBG+Morfin tolerant ve ayrıca ODN+Morfin tolerant grubunda 5-HT₃ immünoaktivitesinin fazla olduğu belirlendi. ODN ve ODN+Morfin grubun 5-HT₃ immünoaktivitesinde anlamlı bir artış görülmedi.

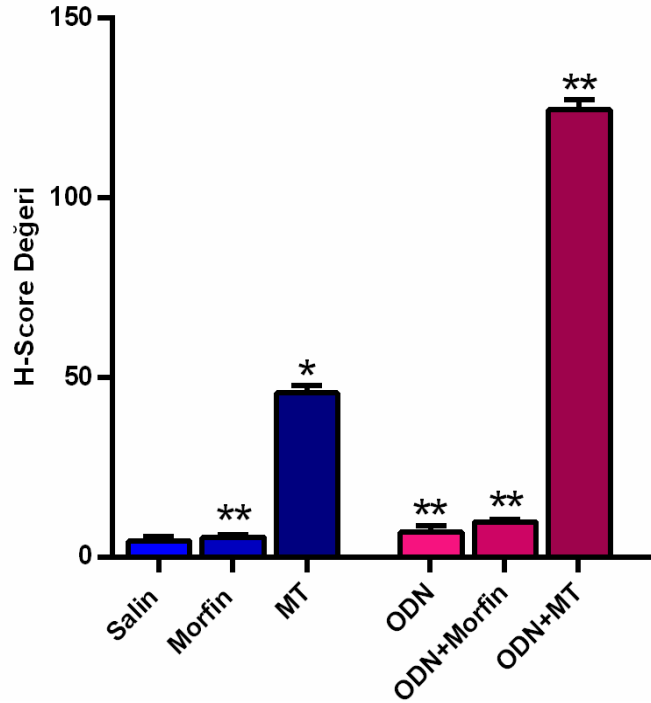
PBG grubun H-Score ortalama değerleri (90,97±3,37) ve PBG+Morfin grubun değerleri (104,91±2,93) salin grubu (4,62±1,20) ve morfin grubu (5,65±0,62) ile karşılaştırıldığında aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu (F_{5,30}: 76,72, p<0,01; Şekil 19). Benzer şekilde, PBG+Morfin tolerant grubun 5-HT₃ reseptör H-Score ortalaması (45,76±2,18), morfin tolerant grubun değerleri (45,76±2,18) ile karşılaştırıldığında aradaki farkın anlamlı olduğu görüldü (p<0,01). Buna ilaveten, ODN+Morfin tolerant grubun 5-HT₃ H-Score ortalama değerleri (124,70±2,71) morfin tolerant grubuna (45,76±2,18) göre anlamlı olarak artmıştı (F_{5,30}: 148,41, p<0,01; Şekil 20). Morfin tolerant grup ile ODN grubun (7,10±1,86) ve ODN+morfin grubun (9,98±0,66) H-Score ortalama değerleri karşılaştırıldığında ise 5-HT₃ reseptör ekspresyonunun anlamlı azaldığı görüldü (p<0,01). 5-HT₃ reseptör ekspresyonu PBG uygulanan tüm gruplarda ve ODN uygulanan morfin tolerant grubunda, salin ve morfin grubuna göre arttığı tespit edildi.



Şekil 18. Dorsal kök gangliyon nöron kesitlerinde 5-HT₃ reseptörünün ekspresyonu. **A)** Salin grubu **B)** Morfin grubu **C)** Morfin toleran grubu **D)** PBG grubu **E)** PBG+Morfin grubu **F)** PBG+Morfin toleran grup **G)** ODN grubu **H)** ODN+Morfin grubu **I)** ODN+Morfin toleran grup. C, D, E, F ve I gruplarında 5-HT₃ immünoaktif hücre sayılarının istatistiksel olarak anlamlı arttığı görüldü ($p < 0,01$). En yoğun immünoaktivitenin I grubunda arttığı tespit edildi (ODN, Ondansetron; PBG, 1-Phenylbiguanide) (X40, Bar:50 μ m).



Şekil 19. 5-HT₃ agonisti PBG ekspresyonunun H-Score ortalama değerleri. Veriler ort. ± SH olarak ifade edildi. *p<0,01 salin grubuna göre karşılaştırıldığında, **p<0,01 morfin ve morfin tolerant grubuna göre karşılaştırıldığında istatistiksel fark (n=6) (MT, Morfin tolerant; PBG,1-Phenylbiguanide)

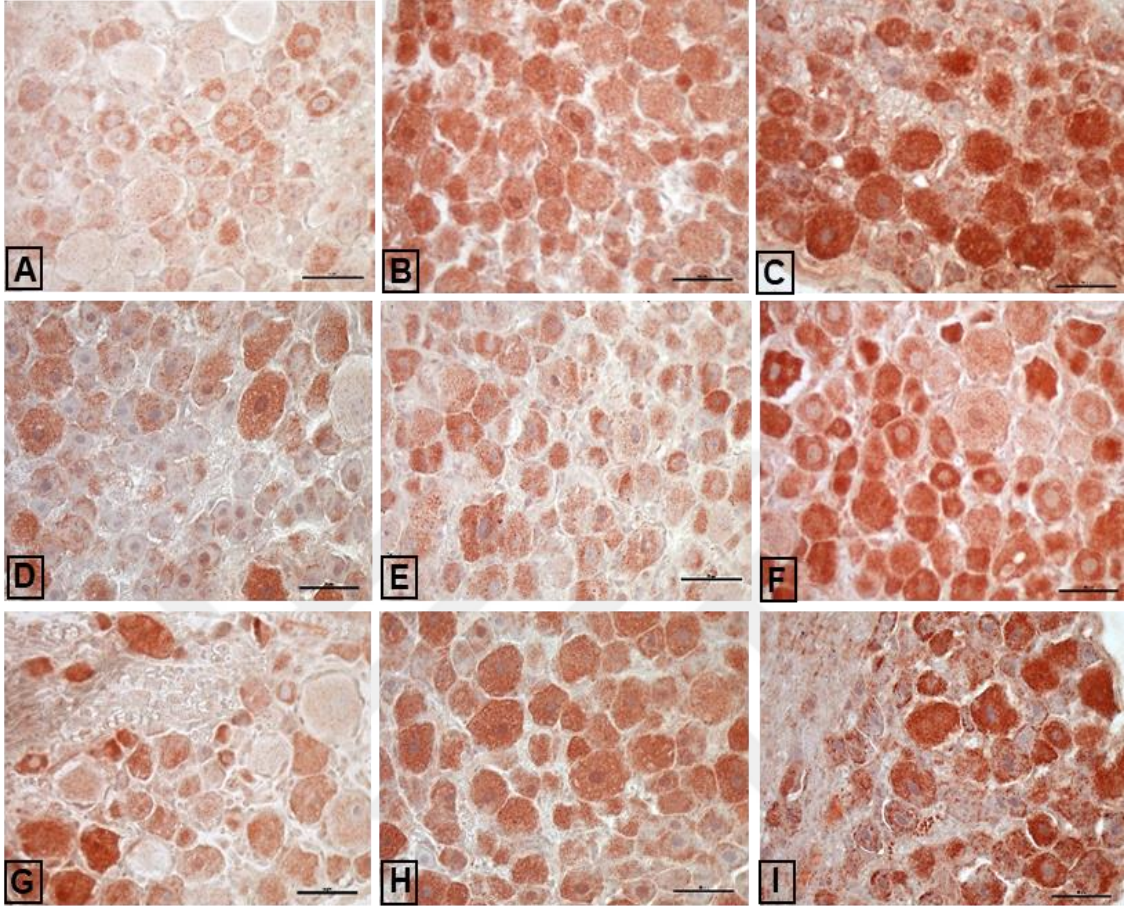


Şekil 20. 5-HT₃ antagonisti ODN ekspresyonunun H-Score ortalama değerleri. Veriler ort. ± SH olarak ifade edildi. *p<0,01 salin grubuna göre karşılaştırıldığında, **p<0,01 morfin tolerant grubuna göre karşılaştırıldığında istatistiksel fark (n=6) (MT, Morfin tolerant; ODN, Ondansetron)

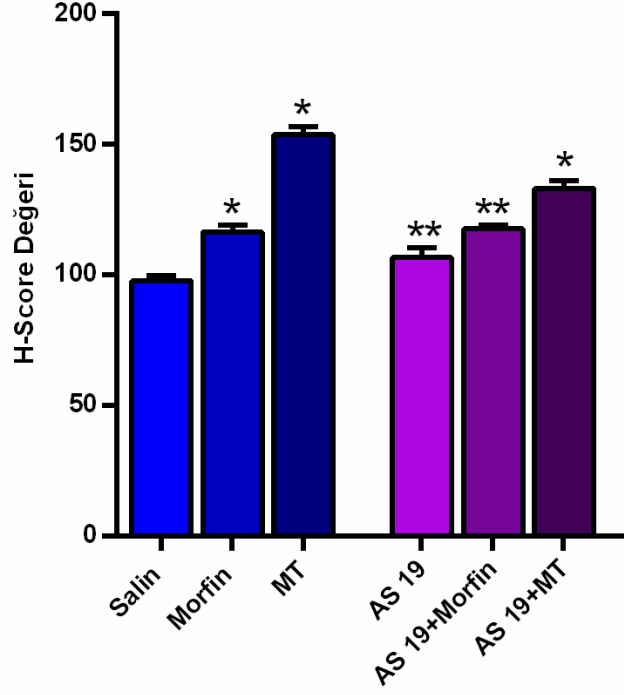
4.6.2. 5-HT₇ Ekspresyonunun Belirlenmesi

İmmünohistokimyasal analiz sonucunda, dorsal kök gangliyonlarından elde edilen nöron kesitlerinde 5-HT₇ ekspresyonunun morfin tolerant grubunda maksimal düzeye ulaştığı belirlendi (Şekil 21). Morfin grubu ile salin grubu karşılaştırıldığında, 5-HT₇ immünoaktivitesinde belirgin artış gözlemlendi. Benzer şekilde, AS 19 ve SB-269970 verilen gruplarda da 5-HT₇ immünoaktivitesinin arttığı görüldü.

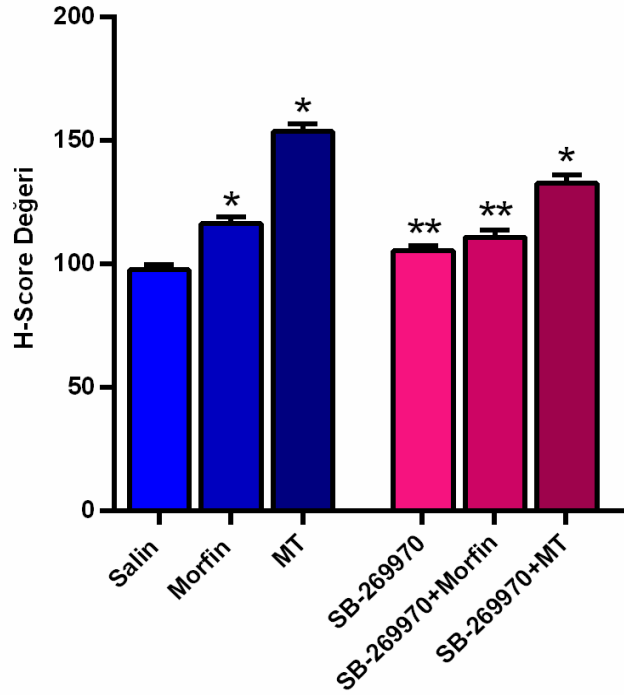
AS 19+Morfin tolerant grubu 5-HT₇ H-Score ortalama değerleri (133,17±2,84), salin grubu (97,70±2,10) ile karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlı bir artış gösterdi (F_{5,30}: 9,15, p<0,01; Şekil 22). Ayrıca, SB-269970+Morfin tolerant grubun 5-HT₇ H-Score ortalama değerleri (132,99±3,28) ile salin grubu değerleri (97,70±2,10) karşılaştırıldığında aradaki farkın anlamlı olduğu gözlemlendi (F_{5,30}: 7,14, p<0,01). AS 19 grubunun H-Score ortalama değerleri (106,74±3,84) ve AS 19+Morfin grubun değerleri (117,75±1,33) ile morfin tolerant grup ortalama değerleri (153,74±3,06) karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark görüldü (p<0,01). Benzer şekilde, SB-269970 grubun H-Score ortalama değerleri (105,45±1,94) ve SB-269970+Morfin grubun ortalama değerleri (110,99±2,94), morfin tolerant grup değerleri (153,74±3,06) ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bulundu (p<0,01; Şekil 23). 5-HT₇ reseptör ekspresyonunun salin ve morfin grubuna göre morfin tolerant grubunda artış gösterdiği ve ayrıca AS 19 ve SB 269970 uygulanan morfin tolerant gruplarında 5-HT₇ reseptör ekspresyonunun arttığı görüldü. Fakat, AS 19 ve SB 269970 uygulanan diğer gruplarda 5-HT₇ reseptör ekspresyonunun morfin tolerant grubuna göre azalmış olduğu gözlemlendi.



Şekil 21. Dorsal kök gangliyon nöron kesitlerinde 5-HT₇ reseptörünün ekspresyonu. **A)** Salin grubu **B)** Morfin grubu **C)** Morfin toleran grubu **D)** AS 19 grubu **E)** AS 19+Morfin grubu **F)** AS 19+Morfin toleran grup **G)** SB-269970 grubu **H)** SB-269970+Morfin grubu **I)** SB-269970+Morfin toleran grup. B, C, D, E, F, G ve I gruplarında 5-HT₇ immünoaktif hücre sayılarının istatistiksel olarak anlamlı arttığı görüldü ($p < 0,01$). En yoğun immünoaktivitenin C grubunda arttığı tespit edilmiştir (X40, Bar:50 μ m).



Şekil 22. 5-HT₇ agonisti AS 19 ekspresyonunun H-Score ortalama değerleri. Veriler ort. ± SH olarak ifade edildi. *p<0,01 salin grubuna göre karşılaştırıldığında, **p<0,01 morfin tolerant grubuna göre karşılaştırıldığında istatistiksel fark (n=6) (MT, Morfin tolerant)



Şekil 23. 5-HT₇ antagonisti SB 269970 ekspresyonunun H-Score ortalama değerleri. Veriler ort. ± SH olarak ifade edildi. *p<0,01 salin grubuna göre karşılaştırıldığında, **p<0,01 morfin tolerant grubuna göre karşılaştırıldığında istatistiksel fark (n=6) (MT, Morfin tolerant)

5. TARTIŞMA

Opioidler akut ve kronik ağrıyı tedavi etmek için kullanılan etkili analjeziklerdir. Uzun süre veya yüksek dozda kullanımları tolerans gelişimi ve solunum depresyonu gibi yan etkilere neden olabilmekte ve bu durum klinik kullanımlarını sınırlandırmaktadır. Morfinin analjezik etkinliğini spinal ve supraspinal düzeyde gerçekleştirdiğini gösteren çok sayıda araştırma bulunmaktadır (173). Çalışmamızda literatür ile uyumlu olarak, sıçanlara uzun süre morfin uygulama ile analjezik etkinin azaldığı ve bu etkiye karşı tolerans geliştiğini gösterdik.

Morfinin analjezik etkisine karşı tolerans gelişimi çok fazla araştırılmasına rağmen hala tolerans mekanizması tam olarak ortaya konulmuş değildir. Opioid toleransının, opioid reseptörlerin (μ , δ ve κ) down-regülasyonu, G protein duyarsızlaştırılması, nitrik oksit (NO), adenilat siklaz (AC) ya da protein kinaz gibi hücre içi sinyal yollarının değişimi ile γ -aminobutirik asit (GABA), glutamat, noradrenalin ve serotonin (5-hidroksitriptamin, 5-HT) gibi hücre reseptörlerin katılımını içeren birkaç mekanizma ile meydana geldiği gösterilmiştir (120). Opioid reseptöre bağlandığı zaman, G proteinleri aktive olur ve adenilat siklaz inhibisyonu ile siklik adenosin monofosfat (cAMP) azalır. Daha sonra, Na^+ ve Ca^{+2} kanalları baskılanır ve K^+ kanallarının aktive olmasıyla analjezi meydana gelir. Zamanla G protein aracılı mekanizmadaki değişiklikler, opioid reseptörde oluşan duyarsızlaşma ile analjezinin azalmasına neden olur (117). Opioid agonistlere tolerans gelişiminde, N-metil-D-aspartik asit (NMDA) reseptör aktivasyonu, nitrik oksit sentaz artışı, protein kinaz aktivasyonu ve adenilat siklaz aktivite artışı gibi farklı mekanizmalar da aracı rol oynamaktadır (4-6, 8).

Opioidlerin analjezik etkisine karşı tolerans gelişimini önlemek için yapılan çalışmalar, opioidlerle birlikte uygulanan çeşitli ajanların kullanımına yönelmiştir. Morfinin farklı peptitler ile birlikte verildiği deneysel çalışmalarda olumlu sonuçlar elde edilmiştir. Bunlar arasında, kanabinoid (CB1), oreksin 1, 5-HT₂, dopamin D1/D2 ve substans P reseptör antagonistleri ve 5-HT reseptör agonistleri ile beraber nitrik oksit sentaz ve siklooksijenaz (COX) inhibitörleri ve kalsiyum kanal blokerleri yer almaktadır (125, 174-180).

Opioid tedavilerin uygulanması ve opioidlerin dönüşümü gibi klinikte uygulanan bazı stratejiler, pratikte bu uygulamaların desteklenmesi yetersiz olmasına rağmen, hiperaljeziyi tedavi etmek ve toleransı önlemek için kullanılmaktadır (181). G protein aktivitesinin kaymasını baskılamak için düşük doz opioid antagonistlerinin kullanımı ve down-regülasyonu önlemek için β -arrestin2'nin inhibisyonu, ağrı yollarını baskılamak için kolesistokinin (CCK) ve NMDA reseptör antagonistlerinin kullanımı gibi diğer stratejiler klinik öncesi çalışılan konulardan bazılarıdır. Antikonvülsanlar ve antidepressanlar gibi yardımcı ilaç tedavileri ile sıcak, soğuk ve egzersiz programları gibi ilaçsız tedavi uygulamaları opioid toleransını ve hiperaljeziyi önlemek için en sık kullanılan yöntemlerdir (116).

Son yıllarda, opioid toleransı geciktirmek ve opioid analjezik etkisini artırmak için serotonerjik reseptörler üzerine çalışmalar yapılmıştır. Serotonin reseptörlerinin ağrı regülasyonunda önemli bir rol oynadığı bilinmektedir. Serotonerjik nöronların uyarılması, omurilik dorsal boynuzundaki inen inhibitör yoldan ağrıya verilen tepkileri azaltır (182). 5-HT reseptör antagonistinin periakvaduktal gri maddeye (PAG) enjekte edilmesi ile morfinin antinosiseptif etkisi bloklanmıştır (183). Dorsal rafe serotonerjik sistemin, morfine karşı tolerans gelişiminde önemli bir rol oynadığı bildirilmektedir. Nayebi ve ark.'nın yaptıkları çalışmada, sıçanın dorsal rafe nukleusundaki serotonin reseptörlerinin doğrudan uyarılmasının, morfinin analjezik etkisine tolerans gelişimini engellediğini göstermektedir (184). Ayrıca, opioidler, dorsal rafe nukleusundan kaynaklı, farklı serotonerjik nöron bölgelerinde 5-HT salınımını indükler (185). Morfin uygulanmasının, GABA seviyelerinde bir artışa ve daha sonra dorsal rafe nukleus nöronlarındaki serotonerjik aktivitenin azalmasına yol açtığı ileri sürülmüştür (186). Opioidler dolaylı olarak GABAerjik ve glutamaterjik afferentleri inhibe ederek rafe nukleusunda serotonerjik nöronları etkiler. Başlangıçtaki GABAerjik ve glutamaterjik inputların güçlenmesi ile aralarındaki denge sağlandığında bu alandan serotonin salınımına ya da azalmasına neden olurlar (187). Dolayısıyla, dorsal ve medyan rafe serotonerjik nöron sistemlerinin, opioid tolerans gelişiminde önemli rollere sahip olduğu varsayılabilir. Orta beyinde 5-HT sentezi oranı ile tolerans gelişimi arasında bir korelasyon olduğunu gösteren görüşler vardır (184). Özellikle, 5-HT₁ ve 5-HT₂ reseptörleri üzerine yapılan çalışmalarda, opioid tolerans gelişiminde 5-HT₁ ve 5-HT₂ reseptörlerinin önemli bir rol oynadığı görülmüştür (163, 164). Dorsal rafe nukleusa 5-HT_{1A} reseptörünün direk stimülasyonu, morfin analjezik etkisine tolerans gelişimini uzatmıştır (184). İn vivo ve elektrofizyolojik davranış çalışmalarının, spinal 5-HT_{1A}

reseptörlerinin spinal kordda nosiseptif informasyonun transmisyonunda rafe magnus nukleusundan inen 5-HT yolunun inhibitör etkisine aracılık ettiği gösterilmiştir (17).

Serotonin reseptör alt tipi agonistlerinin morfine karşı tolerans gelişim mekanizmasına etkilerinin incelendiği çalışmalarda, bu maddelerin ağrı yollarına katıldığı ve morfinin analjezik etkisinde aracı rol oynadıkları gösterilmiştir (10, 188). Bizim çalışmamızda, serotonin reseptörü alt tiplerinden 5-HT₃ ve 5-HT₇ agonist ve antagonistlerinin morfin ile kombinasyonlarının, tail-flick ve hot-plate testlerinde morfin analjezisi ve tolerans gelişimi üzerine etkileri incelendi. Yapılan analjezik testler sonucunda, 5-HT₃ reseptör agonisti 1-phenylbiguanide (PBG)'nin morfin analjezisini azalttığı, 5-HT₃ reseptör antagonisti ondansetron (ODN) ve 5-HT₇ reseptör agonisti AS 19'un morfin analjezisini artırdığı görüldü. 5-HT₇ reseptör antagonisti SB-269970 ise morfin kaynaklı analjeziye etki göstermedi. ODN ve AS 19 morfin toleransını azaltıcı yönde etki gösterdi. Fakat, PBG'nin ve SB-269970'nin morfine karşı gelişen toleransa etkisinin olmadığı görüldü. Ayrıca, dorsal kök gangliyonlarında 5-HT₃ ve 5-HT₇ reseptörlerinin immünohistokimyasal olarak ekspresyonları incelendiğinde en fazla immünoreaktivitenin morfin tolerant gruplarında olduğu gözlemlendi. Morfin tolerant gruplarında 5-HT₃ ve 5-HT₇ ekspresyonları morfin ve salin grubuna göre artmıştı. 5-HT₃ agonisti PBG ve antagonisti ODN uygulanan morfin tolerant grupta yoğun olan ekspresyon, morfin tolerant ve salin grubuna göre fazlaydı. 5-HT₇ reseptörlerinin maksimal immünoreaktivitesi, morfin tolerant grubunda tespit edildi. Benzer şekilde, AS 19 ve SB-269970 uygulanan morfin tolerant gruplarında da 5-HT₇ reseptör ekspresyonunun arttığı gözlemlendi.

Elektrofizyolojik çalışmalar ve analjezi testleri morfin analjezik etkisinin oluşmasında opioid ve serotonerjik sistemler arasındaki etkileşimin önemli olduğunu göstermiştir (10). Morfinin akut olarak verilmesi, dorsal rafe nukleus ve medyan rafe nukleus projeksiyon alanlarında 5-HT salınımını artırır (189). Fakat, kronik morfin uygulamasının GABA salınımında bir artışa ve ardından dorsal rafe nukleusunda serotonerjik aktivitede bir azalmaya yol açtığı öne sürülmüştür (190). Ayrıca, morfinin ağrı iletimi inhibisyonunun, merkezi serotonerjik nöronlara bağlı olduğu ifade edilmiştir (191). Opioidlerin antinosiseptif etkisini merkezi serotonerjik nöronları aktive ederek meydana getirdiği gösterilmiştir (192). Morfinin sistemik kullanımı farklı beyin bölgelerinde ve spinal kordun dorsal boynuzunda 5-HT salınımında artışa neden olmaktadır (191). Eksitator nörotransmitterlerin ve GABA'nın 5-HT salınımında rol

oynadığı bilinmektedir (192). Ancak morfinin 5-HT salınımında artışa nasıl neden olduğuna dair net bilgi yoktur. Bazı deneysel modellerde morfin kullanımı ile spinal kord nöronlarında 5-HT salınımının ve buna bağlı morfinin analjezik etkisinin arttığı gösterilmiş, ancak bu etkiye zıt olarak bazı çalışmalarda ise 5-HT reseptör aktivasyonu morfinin analjezik etkisini azalttığı görülmüştür (193). Bununla birlikte, 5-HT reseptörlerinin aktive edilmesinin morfin toleransın gelişiminde tartışmalı sonuçları da vardır. Bir çalışmada, 5-HT'nin sistemik verilmesine yanıt olarak serotonin aktivitesinde artışın morfine karşı toleransı hızlandırdığı bulunmuştur (186). Contreras ve ark.'nın yaptıkları diğer bir çalışmada da, 5-HT prokürsörü olan L-triptofan kullanımı ise morfin tolerans gelişimini hızlandırmıştır (158). Buna ilaveten, spesifik bir serotonin geri alım inhibitörünün, morfinin antinösetif etkisine karşı tolerans gelişimini hafiflettiği görülmüştür (124). Bu sonuçlar, 5-HT reseptörleri (5-HT₁₋₇) alt tiplerinin, morfinin analjezik etkisi üzerine farklı etkiler gösterdiğini kanıtlamaktadır.

5-HT₃ reseptörleri, hem MSS hem de periferik sinir sisteminde nöronal depolarizasyona ve nörotransmitter salınımına aracılık eden ligand kapılı katyonik iyon kanallarına kenetlenmiştir. Moleküler biyolojisi, genetiği, ekspresyon modeli ve fonksiyonu kapsamlı bir şekilde analiz edilmiştir. 5-HT₃ reseptörleri, omurilik nöronlarında veya afferent liflerde eksprese edilir. Özellikle 5-HT₃ reseptörlerinin regüle ettiği substans P, α -kalsitonin gen ilişkili peptit, transient reseptör potansiyel vanilloid-1 ve kapsaisin duyarlı küçük afferent lifler üzerinde ekspresyon daha belirgindir (194). Primer duyu nöronlarında (195, 196), duyu nöron hücre gövdelerinde ve omuriliğin dorsal boynuzu içindeki presinaptik terminallerde, eksitasyona ve nörotransmitter salınımına neden olabilecek fonksiyonel 5-HT₃ reseptörleri tanımlanmıştır (194, 197). Omuriliğin dorsal boynuzu içindeki analjezik etkisi, elektrofizyolojik çalışmalarda doğrulanmıştır (194). 5-HT₃ reseptör agonistleri gastrointestinal bozukluklar, kaygı, ağrı ve hiperemezis tedavisinde kullanılır (198).

Mevcut bilgiler, 5-HT₃ reseptörlerinin nösetif sinyal iletimini inhibe edebileceğini veya opioid toleransı ile uyumlu şekilde nösetif sinyali kolaylaştırılabileceğini göstermektedir. Örneğin, selektif 5-HT₃ agonisti 2-Me-5-HT'nin intratekal enjeksiyonu bazı modellerde analjezik aktiviteye neden olur. Bu analjezik aktivite 5-HT₃ kaynaklı GABAerjik inhibitör sinyalin artması ile meydana gelir (19). Spinal sinir ligasyonu oluşturulan sıçanlarda, 5-HT₃ reseptör agonisti kullanımının, GABAerjik aracılı anti-hiperaljezik etki gösterdiği (199, 200) ve santral sensitizasyonun

gelişimi ve sürdürülmesinde rol oynadığı gösterilmiştir (201). Farklı bir çalışmada ise 5-HT₃ agonisti 2-Me-5-HT'nin primer afferent nöronların terminallerinin postsinaptik bölgelerinde nosiseptif transmisyonu inhibe eden GABA salınımını artırdığı görülmüştür (202). İnen serotonerjik sistem aktivasyonu spinal projeksiyon nöronlarında postsinaptik inhibisyona neden olur (203). Bununla birlikte, sıçanlarda 5-HT₃ reseptör aktivasyonunun intrinsik spinal kord nöronlarını uyarıp, dorsal boynuzda GABA_A salınımını artırarak antinosisepsiyonu indüklediği tail-flick analjezi testinde gösterilmiştir (204). Supraspinal morfin verilmesi, omurilikteki 5-HT₃ reseptörlerinin aktive edilmesiyle internöronlardan GABA salınımını uyarabilir ve bu durum antinosisepsiyonla sonuçlanabilir. Kawamata ve ark. tarafından yapılan deneysel bir çalışmada, intraserebroventriküler morfin uygulanması omurilikteki 5-HT₃ reseptörlerinin aktivasyonu ve kısmen GABA salınması yoluyla antinosiseptif etki oluşturduğu gösterilmiştir (21). Rocznik ve ark. çalışmasında da benzer şekilde 5-HT₃ reseptör agonisti PBG'nin, sistemik olarak uygulanması analjezik etki meydana getirmiştir (165). Ancak, bazı çalışmalarda bu etkiye zıt olarak inen serotonerjik yolların hiperanaljezi oluşmasında önemli bir rol oynadıkları gösterilmiştir (205-207).

Bütün bu bilinenlere rağmen, spinal 5-HT₃ reseptörlerin morfinin antinosiseptif etkisindeki rolleri hala tartışmalıdır ve bu alanda çalışma sayısı yetersizdir. Davranış çalışmaları, intratekal olarak verilen 5-HT'nin neden olduğu antinosisepsiyonun 5-HT₃ reseptörleri tarafından yönlendirildiğini göstermiştir (208). Bununla birlikte, 5-HT₃ reseptör aktivasyonunun nöronal cevapları doğrudan inhibe etmesi olası değildir, çünkü 5-HT₃ reseptör aktivasyonu ile sodyum ve kalsiyum iyonlarına membran geçirgenliğini artırması depolarizasyona neden olur (209). Farklı çalışmalarda, 5-HT₃ agonistlerinin hiperanaljezik etkisi olduğu bildirilmiştir (210-212). Sunulan bu çalışmada da subkutan olarak verilen morfin ile 5-HT₃ reseptör agonisti, morfin analjezik etkisinde hiperanaljezik etki göstermiş, fakat morfine karşı tolerans gelişimine etkisi görülmemiştir. Bulgularımız, birçok literatür bilgisiyle uyumlu olmasına rağmen çelişkili sonuçları da mevcuttur. Sonuçlardaki farklılıklar, önceki çalışmalarda morfin türevlerinin zayıf 5-HT₃ reseptör agonisti olarak davrandıklarının ortaya konulması (213) ve sonraki çalışmalarda morfinin 5-HT₃ reseptör aracılığıyla 5-HT akımını inhibe ettiğinin elektrofizyolojik olarak gösterilmesinden kaynaklanmaktadır. Ayrıca, elektrofizyoloji çalışmalarında düşük mikromolar konsantrasyonlarda morfin uygulanması, 5-HT_{3A} reseptör aracılı 5-HT akımlarını ve 5-HT aktivasyonunu yavaşlatmıştır (214, 215). Bu durum, morfinin 5-HT₃

reseptörlerinin bir agonisti olarak etkinliği bulunmadığını ve morfin uygulama öncesi birlikte alındığında, morfin ile yarışmasız inhibisyona girerek 5-HT₃ reseptör aktivasyonunu önlediğini göstermektedir (216). Böylece, morfin kaynaklı 5-HT₃ reseptör aktivasyonunun önlenmesi ile 5-HT akımının azalması, 5-HT₃ reseptörlerinin morfinin analjezik etkisinde aracı rol oynadığını göstermektedir. Bunun yanısıra, 5-HT₃ reseptörlerinin aktivasyonu ile NO sentaz uyarılması ve ikincil haberci fosfolipaz C aracılı hücre kalsiyum iyon geçirgenliğinin artması (145, 217) morfin analjezisinde hiperaljezik etkiye neden olabileceğini düşündürmektedir.

Bu tez çalışmasında, 5-HT₃ reseptör antagonisti ODN'nin morfin analjezik etkisini artırdığını ve morfinin analjezik etkisine karşı tolerans gelişimini azalttığını gösterdik. Literatüre bakıldığında, Chu ve ark. tarafından yapılan çalışmada, bulgularımızla uyumlu olarak, 5-HT₃ reseptör antagonistlerinin, opioidlerin indüklediği hiperaljezi ve toleransı önleyebildiği gösterilmiştir (18). Aynı şekilde farklı bir çalışmada, sıçanlara akut olarak intratekal ODN enjeksiyonu yapılması morfine karşı tolerans gelişimi ve opioidlerin indüklediği hiperaljeziyi önlemiştir (218). Ayrıca, Liang ve ark. tarafından yapılan başka bir çalışmada da, 5-HT₃ reseptör antagonisti ODN'nin kronik morfin kullanımı sonucu oluşan morfin indüklü hiperaljeziyi ve analjezik toleransı azalttığı gösterilmiştir (159). ODN'nin, morfin ile birlikte kullanıldığı zaman, morfin toleransını önlediği ortaya konulmuştur (160). Bununla birlikte, ODN'nin sistemik ve intratekal enjeksiyonu ile morfine karşı toleransın önlendiği ve ODN ile birlikte uygulanan morfin tedavisinin, omurilik ve dorsal kök gangliyonu nöronlarında gen ekspresyonu üzerindeki adaptif etkileri engellediği gösterilmiştir (18, 219-221). Giordano ve ark. tarafından yapılan başka bir çalışmada ise bulgularımıza zıt olarak bir opioid analjezik olan tramadol'un analjezik etkisi, aynı zamanda bir antiemetik ilaç olan 5-HT₃ reseptör antagonisti ODN ile azalmıştır (211). Bu sonuçların farklı olması, ilaçların uygulama şekli, dozu ve nosiseptif testlerdeki farklılıklardan kaynaklandığını düşündürebilir.

İmmünohistokimyasal çalışmalar, nosiseptif sinyali alan medulla spinalisin süperfisyel dorsal boynuzunda 5-HT₃ reseptörlerin yoğun bir şekilde eksprese olduğunu ortaya koymuştur (222). Çalışmamızda, dorsal kök gangliyonlarında 5-HT₃ reseptörlerin ekspresyonu immünohistokimyasal olarak gösterilmiştir. Özellikle, morfin tolerant gruplarında ekspresyonun arttığı görüldü. Bu kanıtlar; 5-HT₃ reseptörlerin, tolerans mekanizmasına spinal kord seviyesinde aracı rol oynadığını göstermektedir. 5-HT₃

reseptör sisteminin opioid toleransa neden olabileceği veya toleransı önleyebileceği bilinmektedir. Bu bakımdan büyük bir olasılıkla, soma veya afferent nöronların merkezi terminallerinde eksprese edilen 5-HT₃ reseptörleri önemlidir. Santral noradrenerjik sistem lezyonunda nosisepsiyonu ilgilendiren ana yapılarda (frontal korteks ve talamus) 5-HT₃ reseptör aktivitesinin azaldığı gösterilmiştir (165, 223). Dokulardan salınan 5-HT, periferik 5-HT₃ reseptörlerini etkileyerek pronosiseptif etkili bradikininin aktivasyonu ile ağrı duyusuna cevap veren nöronları duyarlı hale getirir (224, 225). 5-HT₃ reseptörünün akut olarak bloke edilmesi, gen ekspresyonlarında değişiklikler ile inen serotonerjik yolları bloke ederek, opioid toleransını ve opioidlerin indüklediği hiperaljeziyi azaltır (159).

Son yıllarda, kemirgenler üzerinde yapılan çalışmalarda morfin ve tramadol uygulanan, inen serotonerjik yolak aracılı ağrı inhibisyonu ve antinosisepsiyonunda, spinal 5-HT₇ reseptörünün rol oynadığı gösterilmiştir (22, 207). 5-HT₇ reseptörü, 5-HT reseptör ailesinin son zamanlarda tanımlanan üyesidir. MSS'de 5-HT₇ reseptörleri yaygın dağılım gösterir ve sirkadiyen ritm, duygudurum, öğrenme ve bellek, uyku, nosisepsiyon ve termoregülasyon düzenlenmesinde rol oynar (133). Spinal 5-HT reseptörlerinin biyolojik rolü, 5-HT reseptörlerinin anatomik dağılımı üzerine yapılan çalışmalardan elde edilen sonuçlara dayanmaktadır (15). Meuser ve ark. 5-HT₇ reseptörlerinin omurilik dorsal boynuzu yüzeysel tabakalarında lokalize olduğunu ve omuriliğin ara bölgelerinde baskın bulunduğunu göstermiştir (150). Aynı zamanda, Doly ve ark. da, omurilikte 5-HT₇ reseptörünün hücre ve alt hücre dağılımını göstermiş ve 5-HT₇ reseptörlerinin ağırlıklı olarak birincil afferent lifler, lamina I ve II'deki peptiderjik internöronlar ile glial hücrelerde bulunduğunu ortaya çıkarmışlardır (153). 5-HT₇ reseptör alt tipleri hem sıçan hem de insan dorsal kök ganglionunda klonlanmıştır (226). Dorsal kök nosiseptör hücre gövdeleri ve dorsal boynuz yüzeysel laminasında 5-HT₇ immünoreaktivitesinin varlığı, primer afferent nöronların merkezi terminalleri üzerindeki 5-HT₇ reseptörü ekspresyonu ile ilgili olduğunu göstermektedir (150). Sunulan bu çalışmada da, 5-HT₇ reseptörlerinin dorsal kök ganglionunda ekspresyonlarının tüm morfin tolerat gruplarında arttığı görüldü. Elde edilen bu bilgiler, 5-HT₇ reseptörlerinin periferik nosisepsiyona katıldığını göstermektedir.

5-HT₇ reseptörlerinin, nosisepsiyonda rol oynadığını gösteren birkaç çalışma bulunmaktadır (138, 141, 227). 5-HT₇ reseptörleri başlıca, dorsal boynuzun süperfisyal laminalarında bulunur ve ağrının endojen kontrolünde rol oynar (150, 153). Rafe magnus

nukleusunda bulunan 5-HT₇ reseptörlerinin inen ağrı yollarının kontrolünde rol oynadığı, çeşitli davranış çalışmalarıyla ortaya çıkarılmıştır (20, 207). 5-HT₇ reseptörlerin uyarılması GABA_A reseptör aracılı Cl⁻ akışını uyarır, dolayısıyla, nosiseptif afferent liflerde nosisepsiyonda aksiyon potansiyelini başlatarak depolarizasyona neden olur (228). 5-HT₇ reseptörleri nöronal eksitasyona neden olan, cAMP oluşumunu uyararak adenilat siklaz aktivasyonunu başlatır ve ağrının inhibisyonuna yol açar (16). Önceki çalışmalarda, 5-HT₇ reseptörlerinin dorsal spinal boynuzda inhibitör internöronlarda bulunduğu ve adenosin A₁ ve GABA_A reseptörlerini aktive ederek ağrı modülasyonuna katıldığı gösterilmiştir (166, 229). Ayrıca, 5-HT₇ reseptörleri, 5-HT_{1A} reseptör ailesi ile etkileşimde olan birçok ligandlara da yüksek afinite göstermektedir ve farmakolojik profil özellikleri benzerdir (150). Bu yüzden, 5-HT_{1A} reseptörünün 5-HT₇ reseptörü etkisinden dolayı, antinosiseptif etkili olduğu gösterilmiştir (167).

5-HT₇ reseptörleri, opioid aracılı analjezide önemli bir rol oynamaktadır (230). Sistemik morfin kullanımı, spinal kordda inhibitör enkefalinerjik ya da GABAerjik internöronlar üzerinde lokalize olan 5-HT₇ reseptörlerini aktive eder ve presinaptik ya da postsinaptik bölgelerde primer afferent liflerin terminalinde nosisepsiyonu inhibe eden GABA ve enkefalin salınımını uyarır (21). 5-HT₇ reseptörü aktive olması, doza bağlı olarak antinosisepsiyona neden olur ve morfinin antinosiseptif etkisini artırır (20, 167, 231). 5-HT₇ reseptörleri morfinle indüklenmiş antinosisepsiyona aracılık etmektedir (205). Biz de çalışmamızda, 5-HT₇ reseptörlerinin morfin analjezik etkisini artırdığını ve morfin toleransı önlediğini gözlemledik.

5-HT₇ reseptörlerin spinal seviyede bloke edilmesi ile opioidlerin indüklediği analjezinin inhibe olduğu akut termal nosiseptif testlerde gösterilmiştir (161). 5-HT₇ reseptör antagonistlerinin (SB-269970 ve SB-258719) sistemik kullanımı, sinir hasarı oluşturulan farelerde, kapsaisin ile indüklenmiş hiperaljezi ile ilişkili mekanik hipersensitiviteyi artırmıştır (167, 232). Spinal 5-HT₇ reseptör antagonisti SB-269970'in intratekal enjeksiyonu ile farmakolojik blokajı, morfin, tramadol ve kannabinoidlerin antinosiseptif etkisini önlediği tail-flick analjezi testinde gösterilmiştir (22, 207). Ayrıca, Dogrul ve ark.'nın yaptıkları bir çalışmada, 5-HT₇ reseptör antagonisti SB-269970'in sistemik olarak verilmesi morfinin antinosiseptif etkisini bloke etmiştir (20). Bizim çalışmamızda ise, SB-269970 uygulanması ile morfinin antinosiseptif etkisinde ve morfine karşı tolerans gelişimi üzerinde herhangi bir etkiye neden olmamıştır.

5-HT₇ reseptörlerinin uyarılması ile primer afferentleri veya nosiseptif dorsal nöronları inhibe etme mekanizması iki şekilde açıklanabilir (150). Bu mekanizmalardan biri agonistler tarafından tetiklenen 5-HT₇ reseptörünün hızlı bir şekilde duyarsızlaşması ve ikinci olarak inhibitör internöronların 5-HT₇ reseptör aracılığı ile aktive olmasıdır. Birinci mekanizma, 5-HT₇ reseptörlerin uzun süreli aktivasyonlarından sonra zamanla duyarsızlaştığı görülmüştür (233). Ayrıca, 5-HT₇ reseptör aktivasyonunun, 5-HT geri alımında inhibisyona neden olarak hücre dışı 5-HT seviyelerini artırdığı gösterilmiştir. Daha sonra bu etki 5-HT₇ reseptörlerinin uzun süreli aktifleştirilmesinden sonra kaybolmuştur. Öte yandan, selektif serotonin geri alım inhibitörleri (SSRI'lar) ile kronik tedavi sonrası 5-HT aktivasyonu, kısmen 5-HT₇ reseptörlerinin duyarsızlaştırılmasına bağlanır (234). 5-HT₇ reseptörü duyarsızlaştırılması, sadece 5-HT₇ reseptörü agonistleri tarafından değil aynı zamanda 5-HT₇ reseptör antagonistleri ile de meydana gelir (235). Ancak, 5-HT₇ reseptörü duyarsızlaştırılması tanımlanmış olmasına rağmen, seçici 5-HT₇ reseptörü agonistlerinin (E-57431 veya E-55888) analjezik (anti-allodinik/anti-hiperaljezik) etkisine karşı tolerans gelişimi gösterilmemiştir (232, 236).

5-HT₇ reseptörlerin aktive olması ile nosiseptif nöronları inhibe etmesinde olası ikinci mekanizma ise, 5-HT₇ reseptörlerinin spinal dorsal boynuzda GABA_A reseptör internöronlarda eksprese edilmesidir (153, 232). Farmakolojik çalışmalar, 5-HT₇ reseptör aracılı antinosisepsiyonda GABA_A reseptörlerin aracı rol oynadığını göstermiştir. Özellikle, siyatik sinir hasarlı sıçanlarda tedavi öncesi intratekal olarak GABA_A reseptör antagonisti uygulanması, 5-HT₇ reseptör agonistlerinin anti-hiperaljezik etkisini önlemiştir (166). GABA aktivasyonu ile sodyum-potasyum-klor kotransporter (NKCC1) ve potasyum-klor kotransporter (KCC2) kanallarının kontrolü ile Cl⁻ transportu meydana gelir. Tedavi öncesi NKCC1 ve KCC2 blokerleri uygulanması, 5-HT₇ reseptör agonisti AS-19'un pro ve anti-nosiseptif etkilerini önlemiştir. Ayrıca, amilorid ile T tipi kalsiyum kanal blokajı da AS 19'un antinosiseptif etkisini azaltmıştır. AS 19, GABA_A reseptör aracılı aktivasyonu ile dorsal boynuzda Cl⁻ iletkenliğindeki değişimler ve kalsiyum iletimi aracılığıyla ağrı sinyalinin modüle eder (236). Bundan dolayı, 5-HT₇ reseptörlerin anti-hiperaljezik etkisi, GABA_A reseptör internöronlardaki 5-HT₇ reseptörlerin aktivasyonundan kaynaklanmaktadır (237).

5-HT₇ reseptörlerin, morfinin antinosiseptif etkisinde önemli bir rol oynadığını gösteren az sayıda çalışma mevcuttur (16). Buna karşın, bu reseptörlerin morfin toleransına etkileri ile ilgili herhangi bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Çalışmamızda

önceki çalışmalarla uygun olarak, 5-HT₇ reseptör aktivasyonu morfinin analjezik etkisini artırmıştır. Ayrıca, 5-HT₇ reseptörün bir agonist ile aktivasyonu morfine karşı tolerans gelişimini de önlemiştir. 5-HT₇ reseptörlerin anti-hiperaljezik etkisinin GABAerjik internöronlarda kavuşum yapan eksitator 5-HT₇ reseptörlerin aktivasyonundan kaynaklandığı görülmektedir. Bu nedenle, sistemik morfin verilmesi ile omuriliğe projekte olan supraspinal nöronların aktive olması ve böylece 5-HT'nin salgılanması olası görülmektedir.



6. SONUÇ

Araştırma sonuçları, farklı reseptörler üzerinde analjezik etkinlik gösteren morfin ile 5-HT₃ reseptör agonisti PBG'nin birlikte verilmesinin morfin kaynaklı analjezik etkiyi azalttığını gösterdi. Morfin tolerant sıçanlara PBG verilmesi ile morfinin analjezik aktivitesinde anlamlı bir etki görülmedi. 5-HT₃ reseptör antagonisti ODN sıçanlar üzerinde analjezik etki oluşturdu ve morfin analjezisini artırdı. Morfin tolerant sıçanlara ODN ve morfinin birlikte uygulanması morfine karşı gelişen toleransı önledi.

Bunun dışında, 5-HT₇ reseptör agonisti AS 19 verilmesi morfin kaynaklı analjezik etkiyi artırdı ve morfine karşı gelişen toleransı azalttı. Çalışmamızda, serotonin 5-HT₃ reseptör agonisti toleransı indükleyici ve 5-HT₇ reseptör agonisti ise morfin tolerans gelişimini önleyici etki göstermiştir.

Bulgular, spinal 5-HT₃ ve 5-HT₇ reseptörleri aracılığıyla, inen serotonerjik yolların aktivasyonunun opioid analjezisinde önemli bir rol oynadığını göstermektedir. Ayrıca, endojen ağrı sisteminin bir parçası olarak 5-HT₃ ve 5-HT₇ reseptörlerinin önemine işaret edilmektedir. Bununla birlikte, 5-HT₃ ve 5-HT₇ reseptörlerinin aktivasyonunun inhibisyonla sonuçlandığı mekanizma tam bilinmemektedir. 5-HT₃ ve 5-HT₇ reseptörleri ile morfin analjezisi üzerine çalışma sayısı yetersizdir.

Sonuç olarak, serotonerjik ve opioid sistem etkileşiminin ve serotonin reseptör sistemini etkileyen ajanların morfinin analjezik etkisine karşı gelişen tolerans üzerinde çok önemli bir role sahip olduğu görülmektedir. Tüm bu sonuçların doğrulanması ve mekanizmaların ortaya çıkarılması için daha ileri deneysel ve klinik araştırmaların yapılması gerekmektedir.

7. KAYNAKLAR

- [1] Raj PP (2000). Ağrı taksonomisi. *Ağrı, İstanbul, Alemdar Ofset*:12-18.
- [2] Dumas EO and Pollack GM (2008). Opioid tolerance development: a pharmacokinetic/pharmacodynamic perspective. *AAPS J*, 10(4):537-51.
- [3] Kiyatkin EA and Rebec GV (1998). Ascorbate modulates glutamate-induced excitations of striatal neurons. *Brain Res*, 812(1-2):14-22.
- [4] Granados-Soto V, Kalcheva I, Hua X, Newton A, and Yaksh TL (2000). Spinal PKC activity and expression: role in tolerance produced by continuous spinal morphine infusion. *Pain*, 85(3):395-404.
- [5] Javan M, Ahmadiani A, Motamadi F, and Kazemi B (2005). Changes in G proteins genes expression in rat lumbar spinal cord support the inhibitory effect of chronic pain on the development of tolerance to morphine analgesia. *Neurosci Res*, 53(3):250-6.
- [6] Javan M, Kazemi B, Ahmadiani A, and Motamedi F (2006). Dexamethasone mimics the inhibitory effect of chronic pain on the development of tolerance to morphine analgesia and compensates for morphine induced changes in G proteins gene expression. *Brain Res*, 1104(1):73-9.
- [7] Lim G, Wang S, Lim JA, and Mao J (2005). Activity of adenylyl cyclase and protein kinase A contributes to morphine-induced spinal apoptosis. *Neurosci Lett*, 389(2):104-8.
- [8] Zeitz KP, Malmberg AB, Gilbert H, and Basbaum AI (2001). Reduced development of tolerance to the analgesic effects of morphine and clonidine in PKC gamma mutant mice. *Pain*, 94(3):245-53.
- [9] Koob GF, Ahmed SH, Boutrel B, Chen SA, Kenny PJ, Markou A, O'Dell LE, Parsons LH, and Sanna PP (2004). Neurobiological mechanisms in the transition from drug use to drug dependence. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 27(8):739-749.
- [10] Fang L-H, Zhang Y-H, and Ku B-S (2005). Fangchinoline inhibited the antinociceptive effect of morphine in mice. *Phytomedicine*, 12(3):183-188.
- [11] Sommer C (2004). Serotonin in pain and analgesia. *Molecular neurobiology*, 30(2):117-125.
- [12] Millan M (1997). The role of descending noradrenergic and serotonergic pathways in the modulation of nociception: focus on receptor multiplicity, in *The pharmacology of pain*. Springer. 385-446.
- [13] Ochi T and Goto T (2000). The antinociceptive effect induced by FR140423 is mediated through spinal 5-HT_{2A} and 5-HT₃ receptors. *European journal of pharmacology*, 409(2):167-172.
- [14] Jeong CY, Choi JI, and Yoon MH (2004). Roles of serotonin receptor subtypes for the antinociception of 5-HT in the spinal cord of rats. *European journal of pharmacology*, 502(3):205-211.

- [15] Millan MJ (2002). Descending control of pain. *Progress in neurobiology*, 66(6):355-474.
- [16] Viguier F, Michot B, Hamon M, and Bourgoin S (2013). Multiple roles of serotonin in pain control mechanisms—implications of 5-HT7 and other 5-HT receptor types. *European journal of pharmacology*, 716(1-3):8-16.
- [17] Liu Z-Y, Zhuang D-B, Lunderberg T, and Yu L-C (2002). Involvement of 5-hydroxytryptamine1A receptors in the descending anti-nociceptive pathway from periaqueductal gray to the spinal dorsal horn in intact rats, rats with nerve injury and rats with inflammation. *Neuroscience*, 112(2):399-407.
- [18] Chu LF, Liang D-Y, Li X, Sahbaie P, D'arcy N, Liao G, Peltz G, and Clark JD (2009). From mouse to man: the 5-HT3 receptor modulates physical dependence on opioid narcotics. *Pharmacogenetics and genomics*, 19(3):193.
- [19] Fukushima T, Ohtsubo T, Tsuda M, Yanagawa Y, and Hori Y (2009). Facilitatory actions of serotonin type 3 receptors on GABAergic inhibitory synaptic transmission in the spinal superficial dorsal horn. *Journal of neurophysiology*, 102(3):1459-1471.
- [20] Dogrul A and Seyrek M (2006). Systemic morphine produce antinociception mediated by spinal 5-HT7, but not 5-HT1A and 5-HT2 receptors in the spinal cord. *British journal of pharmacology*, 149(5):498-505.
- [21] Kawamata T, Omote K, Toriyabe M, Kawamata M, and Namiki A (2002). Intracerebroventricular morphine produces antinociception by evoking γ -aminobutyric acid release through activation of 5-hydroxytryptamine 3 receptors in the spinal cord. *Anesthesiology: The Journal of the American Society of Anesthesiologists*, 96(5):1175-1182.
- [22] Yanarates O, Dogrul A, Yildirim V, Sahin A, Sizlan A, Seyrek M, Akgül Ö, Kozak O, Kurt E, and Aypar U (2010). Spinal 5-HT7 receptors play an important role in the antinociceptive and antihyperalgesic effects of tramadol and its metabolite, O-desmethyltramadol, via activation of descending serotonergic pathways. *Anesthesiology: The Journal of the American Society of Anesthesiologists*, 112(3):696-710.
- [23] Steeds CE (2016). The anatomy and physiology of pain. *Surgery (Oxford)*, 34(2):55-59.
- [24] Patel NB (2010). Physiology of pain. *Guide to pain management in low-resource settings*:13.
- [25] Westlund KN (2014). Pain Pathways: Peripheral, Spinal, Ascending, and Descending Pathways, in Practical Management of Pain (Fifth Edition). *Elsevier*. 5:87-98.
- [26] Geber C, Baumgärtner U, Schwab R, Müller H, Stoeter P, Dieterich M, Sommer C, Birklein F, and Treede R-D (2009). Revised definition of neuropathic pain and its grading system: an open case series illustrating its use in clinical practice. *The American journal of medicine*, 122(10):3-12.
- [27] Uyar M and Köken İ (2017). Kronik ağrı nörofizyolojisi. *Neurophysiology of chronic pain TOTBİD Dergisi*, 16:70-76.

- [28] Davis MP and Walsh D (2004). Epidemiology of cancer pain and factors influencing poor pain control. *American Journal of Hospice and Palliative Medicine®*, 21(2):137-142.
- [29] Kumar N (2007). Report of a delphi study to determine the need for guidelines and to identify the number and topics of guidelines that should be developed by WHO. *WHO Normative Guidelines on Pain Management*. Geneva: WHO.
- [30] Mense S (1993). Nociception from Skeletal-Muscle in Relation to Clinical Muscle Pain. *Pain*, 54(3):241-289.
- [31] Schaible HG and Grubb BD (1993). Afferent and Spinal Mechanisms of Joint Pain. *Pain*, 55(1):5-54.
- [32] Cervero F (1994). Sensory Innervation of the Viscera - Peripheral Basis of Visceral Pain. *Physiological Reviews*, 74(1):95-138.
- [33] Messlinger K (1996). Functional morphology of nociceptive and other fine sensory endings (free nerve endings) in different tissues. *Polymodal Receptor - a Gateway to Pathological Pain*, 113:273-298.
- [34] Stacey MJ (1969). Free nerve endings in skeletal muscle of the cat. *J Anat*, 105(Pt 2):231-54.
- [35] Coggeshall RE and Carlton SM (1997). Receptor localization in the mammalian dorsal horn and primary afferent neurons. *Brain Res Brain Res Rev*, 24(1):28-66.
- [36] Melzack R and Wall PD (1965). Pain mechanisms: a new theory. *Science*, 150(3699):971-979.
- [37] Price DD (1999). Psychological mechanisms of pain and analgesia. *Hippocampus*, 19:893-901.
- [38] Perl ER (2007). Timeline - Ideas about pain, a historical view. *Nature Reviews Neuroscience*, 8(1):71-80.
- [39] Schmidt RF and Willis WD (2007). *Encyclopedia of pain*. Vol. 1: Springer New York.
- [40] Aydin O (2002). Agri ve Agri Mekanizmalarina Güncel Bakis. *ADU Tip Fakultesi Dergisi*, 3:37-8.
- [41] Maxwell D, Christie W, Short A, Storm-Mathisen J, and Ottersen O (1990). Central boutons of glomeruli in the spinal cord of the cat are enriched with glutamate-like immunoreactivity. *Neuroscience*, 36(1):83-104.
- [42] Dougherty P and Willis W (1991). Enhancement of spinothalamic neuron responses to chemical and mechanical stimuli following combined micro-iontophoretic application of N-methyl-D-aspartic acid and substance P. *Pain*, 47(1):85-93.
- [43] Westlund KN, Kochukov MY, Lu Y, and McNearney TA (2010). Impact of central and peripheral TRPV1 and ROS levels on proinflammatory mediators and nociceptive behavior. *Molecular pain*, 6(1):46.
- [44] Lee I, Kim HK, Kim JH, Chung K, and Chung JM (2007). The role of reactive oxygen species in capsaicin-induced mechanical hyperalgesia and in the activities of dorsal horn neurons. *PAIN®*, 133(1-3):9-17.

- [45] Caterina MJ, Schumacher MA, Tominaga M, Rosen TA, Levine JD, and Julius D (1997). The capsaicin receptor: a heat-activated ion channel in the pain pathway. *Nature*, 389(6653):816.
- [46] Chen J HJ, Zhao ZQ, Wei F, Hsieh JC, Bao L, et al (2013). Pain, in *Neuroscience in the 21st Century: From Basic to Clinical*, DW P, Editor. Springer: New York: New York. 965–1023.
- [47] Yücel A (1997). Akut ağrı nörofizyolojisi. *Hasta kontrollü analjezi (PCA)*:5-19.
- [48] Özyalçın S, Koltka K, and Uyar M (2005). Akut ağrı genel bilgiler. Özyalçın SN (Editör). Akut ağrı'da. *Güneş Kitabevi*.1-24.
- [49] Terman G and Bonica J (2001). Spinal mechanisms and their modulation. *Bonica's management of pain*, 3:73-152.
- [50] Granot M, Granovsky Y, Sprecher E, Nir R-R, and Yarnitsky D (2006). Contact heat-evoked temporal summation: tonic versus repetitive-phasic stimulation. *Pain*, 122(3):295-305.
- [51] Marchand S (2008). The physiology of pain mechanisms: from the periphery to the brain. *Rheum Dis Clin North Am*, 34(2):285-309.
- [52] Li J, Simone DA, and Larson AA (1999). Windup leads to characteristics of central sensitization. *Pain*, 79(1):75-82.
- [53] Marchand S and Arsenault P (2002). Spatial summation for pain perception: interaction of inhibitory and excitatory mechanisms. *Pain*, 95(3):201-206.
- [54] Fields HL (1985). The Pain System - the Neural Basis of Nociceptive Transmission in the Mammalian Nervous-System-Willis,Wd. *Science*, 228(4707):1522-1522.
- [55] Le Bars D (2002). The whole body receptive field of dorsal horn multireceptive neurones. *Brain Research Reviews*, 40(1-3):29-44.
- [56] Rexed B (1952). The cytoarchitectonic organization of the spinal cord in the cat. *Journal of Comparative Neurology*, 96(3):415-495.
- [57] Willis W and Westlund K (1997). Neuroanatomy of the pain system and of the pathways that modulate pain. *Journal of Clinical Neurophysiology*, 14(1):2-31.
- [58] WillisWD C and Coggeshall R (1991). Sensory mechanisms of the spinal cord. NewYork: Plenum Press.
- [59] Westlund KN, Carlton SM, Zhang D, and Willis WD (1992). Glutamate-immunoreactive terminals synapse on primate spinothalamic tract cells. *Journal of Comparative Neurology*, 322(4):519-527.
- [60] Abbadie C and Besson J-M (1992). C-fos expression in rat lumbar spinal cord during the development of adjuvant-induced arthritis. *Neuroscience*, 48(4):985-993.
- [61] Sugiura Y (1996). Spinal organization of C-fiber afferents related with nociception or non-nociception, in *Progress in brain research*. Elsevier. 319-339.
- [62] Burstein R, Dado RJ, and Giesler Jr GJ (1990). The cells of origin of the spinothalamic tract of the rat: a quantitative reexamination. *Brain research*, 511(2):329-337.

- [63] Dubin AE and Patapoutian A (2010). Nociceptors: the sensors of the pain pathway. *J Clin Invest*, 120(11):3760-72.
- [64] Wang CC, Willis WD, and Westlund KN (1999). Ascending projections from the area around the spinal cord central canal: a Phaseolus vulgaris leucoagglutinin study in rats. *Journal of Comparative Neurology*, 415(3):341-367.
- [65] Brodin E, Malin E, and Olgart L (2016). Neurobiology: General Considerations From Acute to Chronic Pain. *Nor. Tannlegeforen. Tid*, 126:28-33.
- [66] Honda CN (1985). Visceral and somatic afferent convergence onto neurons near the central canal in the sacral spinal cord of the cat. *Journal of neurophysiology*, 53(4):1059-1078.
- [67] Craig A, Bushnell M, Zhang E-T, and Blomqvist A (1994). A thalamic nucleus specific for pain and temperature sensation. *Nature*, 372(6508):770.
- [68] Bennett GJ, Seltzer ZE, Lu G-W, Nishikawa N, and Dubner R (1983). The cells of origin of the dorsal column postsynaptic projection in the lumbosacral enlargements of cats and monkeys. *Somatosensory research*, 1(2):131-149.
- [69] Hirshberg R, Al-Chaer E, Lawand N, Westlund K, and Willis W (1996). Is there a pathway in the posterior funiculus that signals visceral pain? *Pain*, 67(2-3):291.
- [70] Houghton AK, Wang C-C, and Westlund KN (2001). Do nociceptive signals from the pancreas travel in the dorsal column? *Pain*, 89(2-3):207-220.
- [71] Price DD (2002). Central neural mechanisms that interrelate sensory and affective dimensions of pain. *Molecular interventions*, 2(6):392.
- [72] Raboisson P, Dallel R, Bernard JF, Le Bars D, and Villanueva L (1996). Organization of efferent projections from the spinal cervical enlargement to the medullary subnucleus reticularis dorsalis and the adjacent cuneate nucleus: a PHA-L study in the rat. *Journal of Comparative Neurology*, 367(4):503-517.
- [73] Almeida A, Størkson R, Lima D, Hole K, and Tjølsen A (1999). The medullary dorsal reticular nucleus facilitates pain behaviour induced by formalin in the rat. *European Journal of Neuroscience*, 11(1):110-122.
- [74] Newman HM, Stevens RT, and Apkarian AV (1996). Direct spinal projections to limbic and striatal areas: anterograde transport studies from the upper cervical spinal cord and the cervical enlargement in squirrel monkey and rat. *Journal of Comparative Neurology*, 365(4):640-658.
- [75] Urban M and Gebhart G (1999). Supraspinal contributions to hyperalgesia. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 96(14):7687-7692.
- [76] Yeomans D and Proudfit H (1990). Projections of substance P-immunoreactive neurons located in the ventromedial medulla to the A7 noradrenergic nucleus of the rat demonstrated using retrograde tracing combined with immunocytochemistry. *Brain research*, 532(1-2):329-332.
- [77] Brightwell JJ and Taylor BK (2009). Noradrenergic neurons in the locus coeruleus contribute to neuropathic pain. *Neuroscience*, 160(1):174-185.
- [78] Bannon A, Decker M, Holladay M, Curzon P, Donnelly-Roberts D, Puttfarcken P, Bitner R, Diaz A, Dickenson A, and Porsolt R (1998). Broad-spectrum, non-opioid analgesic activity by selective modulation of neuronal nicotinic acetylcholine receptors. *Science*, 279(5347):77-80.

- [79] Guyton A and Hall J (2000). Textbook of medical physiology (Guyton physiology). *Saunders*. 9:598-609.
- [80] Raffa RB, Rawls SM, and Beyzarov EP (2013). Netter's Illustrated Pharmacology Updated Edition: with Student Consult Access. Elsevier Health Sciences.
- [81] Wolfer DP (2002). What's wrong with my mouse? Behavioral phenotyping of transgenic and knockout mice. *Genes, Brain and Behavior*, 1(2):131-131.
- [82] D'Amour FE and Smith DL (1941). A method for determining loss of pain sensation. *J Pharmacol Exp Ther*, 72(1):74-9.
- [83] Ben-Bassat J, PERETZ E, and Sulman F (1959). Analgesimetry and ranking of analgesic drugs by the receptacle method. *Archives internationales de pharmacodynamie et de therapie*, 122:434.
- [84] Tjølsen A, Lund A, Berge O-G, and Hole K (1989). An improved method for tail-flick testing with adjustment for tail-skin temperature. *Journal of neuroscience methods*, 26(3):259-265.
- [85] Eddy NB and Leimbach D (1953). Synthetic analgesics. II. Dithienylbutenyl- and dithienylbutylamines. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 107(3):385-393.
- [86] Hunskaar S, Berge O-G, and Hole K (1985). Antinociceptive effects of orphenadrine citrate in mice. *European journal of pharmacology*, 111(2):221-226.
- [87] Randall LO (1957). A method for measurement of analgesic activity on inflamed tissues. *Arch Int Pharmacodyn.*, 111:409-419.
- [88] Haffner F (1929). Experimentelle prüfung schmerzstillender mittel. *DMW-Deutsche Medizinische Wochenschrift*, 55(18):731-733.
- [89] Koster R (1959). Acetic acid for analgesic screening. *Fed proc*, 18:412.
- [90] Dubuisson D and Dennis SG (1977). The formalin test: a quantitative study of the analgesic effects of morphine, meperidine, and brain stem stimulation in rats and cats. *Pain*, 4:161-174.
- [91] Tjølsen A, Berge O-G, Hunskaar S, Rosland JH, and Hole K (1992). The formalin test: an evaluation of the method. *Pain*, 51(1):5-17.
- [92] Al-Hasani R and Bruchas MR (2011). Molecular mechanisms of opioid receptor-dependent signaling and behavior. *The Journal of the American Society of Anesthesiologists*, 115(6):1363-1381.
- [93] Simon EJ, Hiller JM, and Edelman I (1973). Stereospecific binding of the potent narcotic analgesic [3H] etorphine to rat-brain homogenate. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 70(7):1947-1949.
- [94] Besse D, Lombard M, Zajac J, Roques B, and Besson J (1990). Pre- and postsynaptic distribution of μ , δ and κ opioid receptors in the superficial layers of the cervical dorsal horn of the rat spinal cord. *Brain research*, 521(1-2):15-22.
- [95] Sora I, Takahashi N, Funada M, Ujike H, Revay RS, Donovan DM, Miner LL, and Uhl GR (1997). Opiate receptor knockout mice define mu receptor roles in endogenous nociceptive responses and morphine-induced analgesia. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 94(4):1544-9.

- [96] Dhawan B, Cesselin F, Raghubir R, Reisine T, Bradley P, Portoghese P, and Hamon M (1996). International Union of Pharmacology. XII. Classification of opioid receptors. *Pharmacological reviews*, 48(4):567-592.
- [97] Ozdemir E (2017). The pathophysiological role of serotonin receptor systems in opioid analgesia and tolerance. *International Journal of Basic & Clinical Pharmacology*, 6(2):217-228.
- [98] Décaillot FM, Befort K, Filliol D, Yue S, Walker P, and Kieffer BL (2003). Opioid receptor random mutagenesis reveals a mechanism for G protein–coupled receptor activation. *Nature Structural and Molecular Biology*, 10(8):629.
- [99] Pasternak GW (2014). Opioids and their receptors: are we there yet? *Neuropharmacology*, 76:198-203.
- [100] Feng Y, He X, Yang Y, Chao D, H Lazarus L, and Xia Y (2012). Current research on opioid receptor function. *Current drug targets*, 13(2):230-246.
- [101] Wadenberg ML (2003). A Review of the Properties of Spiradoline: A Potent and Selective k-Opioid Receptor Agonist. *CNS drug reviews*, 9(2):187-198.
- [102] Akil H, Owens C, Gutstein H, Taylor L, Curran E, and Watson S (1998). Endogenous opioids: overview and current issues. *Drug & Alcohol Dependence*, 51(1):127-140.
- [103] Lutz P-E and Kieffer BL (2013). Opioid receptors: distinct roles in mood disorders. *Trends in neurosciences*, 36(3):195-206.
- [104] Toll L, Bruchas MR, Cox BM, and Zaveri NT (2016). Nociceptin/orphanin FQ receptor structure, signaling, ligands, functions, and interactions with opioid systems. *Pharmacological reviews*, 68(2):419-457.
- [105] Pan ZZ, Hirakawa N, and Fields HL (2000). A cellular mechanism for the bidirectional pain-modulating actions of orphanin FQ/nociceptin. *Neuron*, 26(2):515-522.
- [106] Barchfeld CC and Medzihradsky F (1984). Receptor-mediated stimulation of brain GTPase by opiates in normal and dependent rats. *Biochemical and biophysical research communications*, 121(2):641-648.
- [107] Taussig R, Iniguez-Lluhi JA, and Gilman AG (1993). Inhibition of adenylyl cyclase by Gi alpha. *Science*, 261(5118):218-221.
- [108] Torrecilla M, Quillinan N, Williams JT, and Wickman K (2008). Pre-and postsynaptic regulation of locus coeruleus neurons after chronic morphine treatment: a study of GIRK-knockout mice. *European Journal of Neuroscience*, 28(3):618-624.
- [109] Díaz A, Flórez J, Pazos A, and Hurlé MaA (2000). Opioid tolerance and supersensitivity induce regional changes in the autoradiographic density of dihydropyridine-sensitive calcium channels in the rat central nervous system. *Pain*, 86(3):227-235.
- [110] Bohn LM, Lefkowitz RJ, Gainetdinov RR, Peppel K, Caron MG, and Lin F-T (1999). Enhanced morphine analgesia in mice lacking β -arrestin 2. *Science*, 286(5449):2495-2498.
- [111] Raman M, Chen W, and Cobb M (2007). Differential regulation and properties of MAPKs. *Oncogene*, 26(22):3100.

- [112] Ji R-R, Kawasaki Y, Zhuang Z-Y, Wen Y-R, and Zhang Y-Q (2006). Protein kinases as potential targets for the treatment of pathological pain, in *Analgesia*. Springer, 359-389.
- [113] Song X, Coffa S, Fu H, and Gurevich VV (2009). How does arrestin assemble MAPKs into a signaling complex? *Journal of Biological Chemistry*, 284(1):685-695.
- [114] Clayton CC, Xu M, and Chavkin C (2009). Tyrosine phosphorylation of Kir3 following κ -opioid receptor activation of p38 MAPK causes heterologous desensitization. *Journal of Biological Chemistry*, 284(46):31872-31881.
- [115] Ahlbeck K (2011). Opioids: a two-faced Janus. *Current medical research and opinion*, 27(2):439-448.
- [116] DuPen A, Shen D, and Ersek M (2007). Mechanisms of opioid-induced tolerance and hyperalgesia. *Pain Manag Nurs*, 8(3):113-21.
- [117] Terman GW, Jin W, Cheong YP, Lowe J, Caron MG, Lefkowitz RJ, and Chavkin C (2004). G-protein receptor kinase 3 (GRK3) influences opioid analgesic tolerance but not opioid withdrawal. *British journal of pharmacology*, 141(1):55-64.
- [118] Sim LJ, Selley DE, Dworkin SI, and Childers SR (1996). Effects of chronic morphine administration on mu opioid receptor-stimulated [35S] GTPgammaS autoradiography in rat brain. *Journal of Neuroscience*, 16(8):2684-2692.
- [119] Thompson D, Pusch M, and Whistler JL (2007). Changes in G protein-coupled receptor sorting protein affinity regulate postendocytic targeting of G protein-coupled receptors. *Journal of Biological Chemistry*, 282(40):29178-29185.
- [120] Nestler EJ and Aghajanian GK (1997). Molecular and cellular basis of addiction. *Science*, 278(5335):58-63.
- [121] Zarrindast M-R, Alaei-Nia K, and Shafizadeh M (2001). On the mechanism of tolerance to morphine-induced Straub tail reaction in mice. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 69(3-4):419-424.
- [122] Luccarini P, Perrier L, Dégoulange C, Gaydier A-M, and Dallel R (2004). Synergistic antinociceptive effect of amitriptyline and morphine in the rat orofacial formalin test. *Anesthesiology: The Journal of the American Society of Anesthesiologists*, 100(3):690-696.
- [123] Sawynok J, Esser MJ, and Reid AR (2001). Antidepressants as analgesics: an overview of central and peripheral mechanisms of action. *Journal of Psychiatry and Neuroscience*, 26(1):21.
- [124] Ozdemir E, Bagcivan I, GURSOY S, Altun A, and Durmus N (2011). Effects of fluoxetine and LY 365265 on tolerance to the analgesic effect of morphine in rats. *Acta Physiologica Hungarica*, 98(2):205-213.
- [125] Ozdemir E, Bagcivan I, and GURSOY S (2013). Role of D1/D2 dopamin receptors antagonist perphenazine in morphine analgesia and tolerance in rats. *Bosnian journal of basic medical sciences*, 13(2):119.
- [126] Commons KG, Van Bockstaele EJ, and Pfaff DW (1999). Frequent colocalization of mu opioid and NMDA-type glutamate receptors at postsynaptic sites in

- periaqueductal gray neurons. *Journal of Comparative Neurology*, 408(4):549-559.
- [127] Zhao M and Joo DT (2006). Subpopulation of dorsal horn neurons displays enhanced N-methyl-D-aspartate receptor function after chronic morphine exposure. *Anesthesiology: The Journal of the American Society of Anesthesiologists*, 104(4):815-825.
- [128] Ndengele MM, Cuzzocrea S, Masini E, Vinci MC, Esposito E, Muscoli C, Petrusca DN, Mollace V, Mazzon E, and Li D (2009). Spinal ceramide modulates the development of morphine antinociceptive tolerance via peroxynitrite-mediated nitroxidative stress and neuroimmune activation. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 329(1):64-75.
- [129] Kolesnick R and Fuks Z (2003). Radiation and ceramide-induced apoptosis. *Oncogene*, 22(37):5897.
- [130] Amin AH, Crawford T, and Gaddum JH (1954). The distribution of substance P and 5-hydroxytryptamine in the central nervous system of the dog. *The Journal of physiology*, 126(3):596-618.
- [131] Côté F, Fligny C, Fromes Y, Mallet J, and Vodjdani G (2004). Recent advances in understanding serotonin regulation of cardiovascular function. *Trends in molecular medicine*, 10(5):232-238.
- [132] Barnes NM and Neumaier JF (2011). Neuronal 5-HT receptors and SERT. *Tocris Biosci Sci Rev Ser*, 34:1-16.
- [133] Masson J, Emerit MB, Hamon M, and Darmon M (2012). Serotonergic signaling: multiple effectors and pleiotropic effects. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Membrane Transport and Signaling*, 1(6):685-713.
- [134] Barnes NM and Sharp T (1999). A review of central 5-HT receptors and their function. *Neuropharmacology*, 38(8):1083-1152.
- [135] Hoyer D, Hannon JP, and Martin GR (2002). Molecular, pharmacological and functional diversity of 5-HT receptors. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 71(4):533-554.
- [136] Lopez-Garcia JA (2006). Serotonergic modulation of spinal sensory circuits. *Current topics in medicinal chemistry*, 6(18):1987-1996.
- [137] Nakamura K, Wu S-X, Fujiyama F, Okamoto K, Hioki H, and Kaneko T (2004). Independent inputs by VGLUT2- and VGLUT3-positive glutamatergic terminals onto rat sympathetic preganglionic neurons. *Neuroreport*, 15(3):431-436.
- [138] Bardin L (2011). The complex role of serotonin and 5-HT receptors in chronic pain. *Behavioural pharmacology*, 22(5 and 6):390-404.
- [139] Kayserl V, Latrémolière A, Hamon M, and Bourgoin S (2011). N-methyl-d-aspartate receptor-mediated modulations of the anti-allodynic effects of 5-HT_{1B/1D} receptor stimulation in a rat model of trigeminal neuropathic pain. *European Journal of Pain*, 15(5):451-458.
- [140] Sasaki M, Obata H, Kawahara K, Saito S, and Goto F (2006). Peripheral 5-HT_{2A} receptor antagonism attenuates primary thermal hyperalgesia and secondary mechanical allodynia after thermal injury in rats. *Pain*, 122(1-2):130-136.

- [141] Hedlund PB and Sutcliffe JG (2004). Functional, molecular and pharmacological advances in 5-HT7 receptor research. *Trends in pharmacological sciences*, 25(9):481-486.
- [142] Brenchat A, Zamanillo D, Hamon M, Romero L, and Vela JM (2012). Role of peripheral versus spinal 5-HT7 receptors in the modulation of pain undersensitizing conditions. *European Journal of Pain*, 16(1):72-81.
- [143] Karnovsky AM, Gotow LF, McKinley DD, Piechan JL, Ruble CL, Mills CJ, Schellin KA, Slightom JL, Fitzgerald LR, and Benjamin CW (2003). A cluster of novel serotonin receptor 3-like genes on human chromosome 3. *Gene*, 319:137-148.
- [144] Miquel MC, Emerit M, Nosjean A, Simon A, Rumajogee P, Brisorgueil MJ, Doucet E, Hamon M, and Verge D (2002). Differential subcellular localization of the 5-HT3-As receptor subunit in the rat central nervous system. *European Journal of Neuroscience*, 15(3):449-457.
- [145] King BN, Stoner MC, Haque SM, and Kellum JM (2004). A nitrergic secretomotor neurotransmitter in the chloride secretory response to serotonin. *Digestive diseases and sciences*, 49(2):196-201.
- [146] van Hooft JA and Vijverberg HP (2000). 5-HT3 receptors and neurotransmitter release in the CNS: a nerve ending story? *Trends in neurosciences*, 23(12):605-610.
- [147] Roerig B and Katz LC (1997). Modulation of Intrinsic Circuits by Serotonin 5-HT3 Receptors in Developing Ferret Visual Cortex. *Journal of Neuroscience*, 17(21):8324-8338.
- [148] Galligan J (2002). Ligand-gated ion channels in the enteric nervous system. *Neurogastroenterology & Motility*, 14(6):611-623.
- [149] Thompson AJ and Lummis SC (2007). The 5-HT3 receptor as a therapeutic target. *Expert opinion on therapeutic targets*, 11(4):527-540.
- [150] Meuser T, Pietruck C, Gabriel A, Xie G-X, Lim K-J, and Palmer PP (2002). 5-HT7 receptors are involved in mediating 5-HT-induced activation of rat primary afferent neurons. *Life sciences*, 71(19):2279-2289.
- [151] Krobert KA, Bach T, Syversveen T, Kvingedal A, and Levy F (2001). The cloned human 5-HT7 receptor splice variants: a comparative characterization of their pharmacology, function and distribution. *Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology*, 363(6):620-632.
- [152] D'sa C and Duman RS (2002). Antidepressants and neuroplasticity. *Bipolar disorders*, 4(3):183-194.
- [153] Doly S, Fischer J, Brisorgueil MJ, Vergé D, and Conrath M (2005). Pre- and postsynaptic localization of the 5-HT7 receptor in rat dorsal spinal cord: immunocytochemical evidence. *Journal of Comparative Neurology*, 490(3):256-269.
- [154] Jordan LM and Schmidt BJ (2002). Propriospinal neurons involved in the control of locomotion: potential targets for repair strategies?, in *Progress in brain research*. Elsevier, 125-139.

- [155] Tao R and Auerbach S (1995). Involvement of the dorsal raphe but not median raphe nucleus in morphine-induced increases in serotonin release in the rat forebrain. *Neuroscience*, 68(2):553-561.
- [156] Xu W, Cui X, and Han J-S (1994). Spinal serotonin 1A and 1C/2 receptors mediate supraspinal mu opioid-induced analgesia. *Neuroreport: An International Journal for the Rapid Communication of Research in Neuroscience*, 5:2665-2668.
- [157] Kimura M, Obata H, and Saito S (2013). Peripheral nerve injury reduces antinociceptive effects of systemic morphine via spinal 5-HT₃ receptors: 14AP3-6. *European Journal of Anaesthesiology (EJA)*, 30:212-212.
- [158] Contreras E, Tamayo L, Quijada L, and Silva E (1973). Decrease of tolerance development to morphine by 5-hydroxytryptophan and some related drugs. *European journal of pharmacology*, 22(3):339-343.
- [159] Liang D-Y, Li X, and Clark JD (2011). 5-hydroxytryptamine type 3 receptor modulates opioid-induced hyperalgesia and tolerance in mice. *Anesthesiology: The Journal of the American Society of Anesthesiologists*, 114(5):1180-1189.
- [160] Hui SCG, Sevilla EL, and Ogle CW (1996). Prevention by the 5-HT₃ receptor antagonist, ondansetron, of morphine-dependence and tolerance in the rat. *British journal of pharmacology*, 118(4):1044-1050.
- [161] Brenchat A, Ejarque M, Zamanillo D, Vela JM, and Romero L (2011). Potentiation of morphine analgesia by adjuvant activation of 5-HT₇ receptors. *Journal of pharmacological sciences*, 116(4):388-391.
- [162] Shahidi S and Hashemi-Firouzi N (2014). The effects of a 5-HT₇ receptor agonist and antagonist on morphine withdrawal syndrome in mice. *Neuroscience letters*, 578:27-32.
- [163] Ozdemir E, Gursoy S, and Bagcivan I (2012). The effects of serotonin/norepinephrine reuptake inhibitors and serotonin receptor agonist on morphine analgesia and tolerance in rats. *The Journal of Physiological Sciences*, 62(4):317-323.
- [164] Crisp T, Stafinsky JL, Uram M, Perni VC, Weaver MF, and Spanos LJ (1991). Serotonin contributes to the spinal antinociceptive effects of morphine. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 39(3):591-595.
- [165] Rocznik W, Wrobel J, Dolczak L, and Nowak P (2013). Influence of central noradrenergic system lesion on the serotonergic 5-HT₃ receptor mediated analgesia in rats. *Adv Clin Exp Med*, 22(5):629-38.
- [166] Viguier F, Michot B, Kayser V, Bernard J-F, Vela J-M, Hamon M, and Bourgoin S (2012). GABA, but not opioids, mediates the anti-hyperalgesic effects of 5-HT₇ receptor activation in rats suffering from neuropathic pain. *Neuropharmacology*, 63(6):1093-1106.
- [167] Brenchat A, Romero L, García M, Pujol M, Burgueño J, Torrens A, Hamon M, Baeyens JM, Buschmann H, and Zamanillo D (2009). 5-HT₇ receptor activation inhibits mechanical hypersensitivity secondary to capsaicin sensitization in mice. *Pain*, 141(3):239-247.
- [168] Kanaan SA, Saadé NE, Haddad JJ, Abdelnoor AM, Atweh SF, Jabbur SJ, and Safieh-Garabedian B (1996). Endotoxin-induced local inflammation and

- hyperalgesia in rats and mice: a new model for inflammatory pain. *PAIN®*, 66(2-3):373-379.
- [169] Ramabadran K, Bansinath M, Turndorf H, and Puig M (1989). The hyperalgesic effect of naloxone is attenuated in streptozotocin-diabetic mice. *Psychopharmacology*, 97(2):169-174.
- [170] Zarrindast MR, Dinkoub Z, Homayoun H, Bakhtiarian A, and Khavandgar S (2002). Dopamine receptor mechanism (s) and morphine tolerance in mice. *Journal of Psychopharmacology*, 16(3):261-266.
- [171] Cheon KW, Lee HS, Parhar IS, and Kang IS (2001). Expression of the second isoform of gonadotrophin-releasing hormone (GnRH-II) in human endometrium throughout the menstrual cycle. *Molecular human reproduction*, 7(5):447-452.
- [172] Gevrek F (2018). Histopathological, immunohistochemical, and stereological analysis of the effect of Ginkgo biloba (Egb761) on the hippocampus of rats exposed to long-term cellphone radiation. *Histology and histopathology*, 33(5):463-473.
- [173] Donnelly S, Davis MP, Walsh D, and Naughton M (2002). Morphine in cancer pain management: a practical guide. *Supportive care in cancer*, 10(1):13-35.
- [174] Wills KL, Vemuri K, Kalmar A, Lee A, Limebeer CL, Makriyannis A, and Parker LA (2014). CB 1 antagonism: interference with affective properties of acute naloxone-precipitated morphine withdrawal in rats. *Psychopharmacology*, 231(22):4291-4300.
- [175] Mousavi Y, Azizi H, Mirnajafi-Zadeh J, Javan M, and Semnanian S (2014). Blockade of orexin type-1 receptors in locus coeruleus nucleus attenuates the development of morphine dependency in rats. *Neuroscience letters*, 578:90-94.
- [176] Mori T, Komiya S, Ohya J, Uzawa N, Sugiyama K, Saitoh Y, Shibasaki M, and Suzuki T (2014). Involvement of 5-HT₂ receptors in the expression of withdrawal diarrhea in morphine-dependent mice. *European journal of pharmacology*, 740:160-167.
- [177] Ozdemir E, Bagcivan I, Durmus N, Altun A, and GURSOY S (2011). The nitric oxide–cGMP signaling pathway plays a significant role in tolerance to the analgesic effect of morphine. *Canadian journal of physiology and pharmacology*, 89(2):89-95.
- [178] Xin L, Geller EB, Liu-Chen L-Y, Chen C, and Adler MW (1997). Substance P release in the rat periaqueductal gray and preoptic anterior hypothalamus after noxious cold stimulation: effect of selective mu and kappa opioid agonists. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 282(2):1055-1063.
- [179] Wong CS, Hsu MM, Chou R, Chou YY, and Tung CS (2000). Intrathecal cyclooxygenase inhibitor administration attenuates morphine antinociceptive tolerance in rats. *British journal of anaesthesia*, 85(5):747-751.
- [180] Williams JT, Christie MJ, and Manzoni O (2001). Cellular and synaptic adaptations mediating opioid dependence. *Physiological reviews*, 81(1):299-343.
- [181] DuPen A, Shen D, and Ersek M (2007). Mechanisms of opioid-induced tolerance and hyperalgesia. *Pain Management Nursing*, 8(3):113-121.

- [182] Yaksh TL and Wilson PR (1979). Spinal serotonin terminal system mediates antinociception. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 208(3):446-453.
- [183] Schul R and Frenk H (1991). The role of serotonin in analgesia elicited by morphine in the periaqueductal gray matter (PAG). *Brain research*, 553(2):353-357.
- [184] Nayebi ARM and Charkhpour M (2006). Role of 5-HT1A and 5-HT2 receptors of dorsal and median raphe nucleus in tolerance to morphine analgesia in rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 83(2):203-207.
- [185] Grauer SM, Tao R, and Auerbach SB (1992). Morphine induces an increase in extracellular serotonin in the rat diencephalon. *Brain research*, 599(2):277-282.
- [186] Li JY, Wong CH, Huang EYK, Lin YC, Chen YL, Tan PP, and Chen JC (2001). Modulations of spinal serotonin activity affect the development of morphine tolerance. *Anesthesia & Analgesia*, 92(6):1563-1568.
- [187] Tao R and Auerbach SB (2003). Influence of inhibitory and excitatory inputs on serotonin efflux differs in the dorsal and median raphe nuclei. *Brain research*, 961(1):109-120.
- [188] Nemmani K and Mogil J (2003). Serotonin–GABA interactions in the modulation of mu- and kappa-opioid analgesia. *Neuropharmacology*, 44(3):304-310.
- [189] Chavarría-Bolaños D, Martínez-Zumaran A, Lombana N, Flores-Reyes H, and Pozos-Guillen A (2013). Expression of substance P, calcitonin gene-related peptide, β -endorphin and methionine-enkephalin in human dental pulp tissue after orthodontic intrusion: a pilot study. *The Angle Orthodontist*, 84(3):521-526.
- [190] Jolas T, Nestler E, and Aghajanian G (1999). Chronic morphine increases GABA tone on serotonergic neurons of the dorsal raphe nucleus: association with an up-regulation of the cyclic AMP pathway. *Neuroscience*, 95(2):433-443.
- [191] Cheido M, Gevorgyan M, and Zhukova E (2014). Comparative evaluation of opioid-induced changes in immune reactivity of CBA mice. *Bulletin of experimental biology and medicine*, 156(3):363.
- [192] Chen F, Wang L, Chen S, Li Z, Chen Z, Zhou X, and Zhai D (2014). Nasal inhalation of butorphanol in combination with ketamine quickly elevates the mechanical pain threshold in the model of chronic constriction injury to the sciatic nerve of rat. *Journal of surgical research*, 186(1):292-296.
- [193] Chen X, Wang T, Lin C, and Chen B (2014). Effect of adenoviral delivery of prodynorphin gene on experimental inflammatory pain induced by formalin in rats. *International journal of clinical and experimental medicine*, 7(12):4877.
- [194] Hamon M, Gallissot M, Menard F, Gozlan H, Bourgoin S, and Verge D (1989). 5-HT₃ receptor binding sites are on capsaicin-sensitive fibres in the rat spinal cord. *European journal of pharmacology*, 164(2):315-322.
- [195] Morales M, McCollum N, and Kirkness EF (2001). 5-HT₃-receptor subunits A and B are co-expressed in neurons of the dorsal root ganglion. *Journal of Comparative Neurology*, 438(2):163-172.
- [196] Smith GM, Berry RL, Yang J, and Tanelian D (1997). Electrophysiological analysis of dorsal root ganglion neurons pre- and post-coexpression of green

- fluorescent protein and functional 5-HT₃ receptor. *Journal of neurophysiology*, 77(6):3115-3121.
- [197] Todorovic SM, Scroggs RS, and Anderson EG (1997). Cationic modulation of 5-HT₂ and 5-HT₃ receptors in rat sensory neurons: the role of K⁺, Ca²⁺ and Mg²⁺. *Brain research*, 765(2):291-300.
- [198] Costall B and Naylor RJ (2004). 5-HT₃ receptors. *Current Drug Targets-CNS & Neurological Disorders*, 3(1):27-37.
- [199] Okazaki R, Namba H, Yoshida H, Okai H, Miura T, and Kawamura M (2008). The antiallodynic effect of neurotrophin® is mediated via activation of descending pain inhibitory systems in rats with spinal nerve ligation. *Anesthesia & Analgesia*, 107(3):1064-1069.
- [200] Hayashida K-i, Kimura M, Yoshizumi M, Hobo S, Obata H, and Eisenach JC (2012). Ondansetron Reverses Antihypersensitivity from Clonidine in Rats after Peripheral Nerve Injury Role of γ -Aminobutyric Acid in α 2-Adrenoceptor and 5-HT₃ Serotonin Receptor Analgesia. *Anesthesiology: The Journal of the American Society of Anesthesiologists*, 117(2):389-398.
- [201] Suzuki R, Rahman W, Hunt SP, and Dickenson AH (2004). Descending facilitatory control of mechanically evoked responses is enhanced in deep dorsal horn neurones following peripheral nerve injury. *Brain research*, 1019(1-2):68-76.
- [202] Alhaider AA, Lei SZ, and Wilcox GL (1991). Spinal 5-HT₃ receptor-mediated antinociception: possible release of GABA. *Journal of Neuroscience*, 11(7):1881-1888.
- [203] Giesler Jr G, Yezielski R, Gerhart K, and Willis W (1981). Spinothalamic tract neurons that project to medial and/or lateral thalamic nuclei: evidence for a physiologically novel population of spinal cord neurons. *Journal of Neurophysiology*, 46(6):1285-1308.
- [204] Glaum SR, Proudfit HK, and Anderson EG (1990). 5-HT₃ receptors modulate spinal nociceptive reflexes. *Brain research*, 510(1):12-16.
- [205] Donovan-Rodriguez T, Urch CE, and Dickenson AH (2006). Evidence of a role for descending serotonergic facilitation in a rat model of cancer-induced bone pain. *Neuroscience letters*, 393(2-3):237-242.
- [206] Svensson CI, Tran TK, Fitzsimmons B, Yaksh TL, and Hua X-Y (2006). Descending serotonergic facilitation of spinal ERK activation and pain behavior. *FEBS letters*, 580(28-29):6629-6634.
- [207] Dogrul A, Ossipov MH, and Porreca F (2009). Differential mediation of descending pain facilitation and inhibition by spinal 5HT-3 and 5HT-7 receptors. *Brain research*, 1280:52-59.
- [208] Bardin L, Lavarenne J, and Eschalier A (2000). Serotonin receptor subtypes involved in the spinal antinociceptive effect of 5-HT in rats. *Pain*, 86(1-2):11-18.
- [209] Derkach V, Surprenant A, and North R (1989). 5-HT₃ receptors are membrane ion channels. *Nature*, 339(6227):706.
- [210] Zeitz KP, Guy N, Malmberg AB, Dirajlal S, Martin WJ, Sun L, Bonhaus DW, Stucky CL, Julius D, and Basbaum AI (2002). The 5-HT₃ subtype of serotonin

- receptor contributes to nociceptive processing via a novel subset of myelinated and unmyelinated nociceptors. *Journal of Neuroscience*, 22(3):1010-1019.
- [211] Giordano J and Rogers LV (1989). Peripherally administered serotonin 5-HT₃ receptor antagonists reduce inflammatory pain in rats. *European journal of pharmacology*, 170(1-2):83-86.
- [212] Sufka KJ, Schomburg FM, and Giordano J (1992). Receptor mediation of 5-HT-induced inflammation and nociception in rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 41(1):53-56.
- [213] Van Hooft J and Vijverberg H (1998). Agonist and antagonist effects of apomorphine enantiomers on 5-HT₃ receptors. *Neuropharmacology*, 37(2):259-264.
- [214] Wittmann M, Peters I, Schaaf T, Wartenberg HC, Wirz S, Nadstawek J, Urban BW, and Barann M (2006). The effects of morphine on human 5-HT_{3A} receptors. *Anesthesia & Analgesia*, 103(3):747-752.
- [215] Fan P (1995). Nonopioid mechanism of morphine modulation of the activation of 5-hydroxytryptamine type 3 receptors. *Molecular pharmacology*, 47(3):491-495.
- [216] Baptista-Hon DT, Deeb TZ, Othman NA, Sharp D, and Hales TG (2012). The 5-HT_{3B} subunit affects high-potency inhibition of 5-HT₃ receptors by morphine. *British journal of pharmacology*, 165(3):693-704.
- [217] Brady CA, Stanford IM, Ali I, Lin L, Williams JM, Dubin AE, Hope AG, and Barnes NM (2001). Pharmacological comparison of human homomeric 5-HT_{3A} receptors versus heteromeric 5-HT_{3A/3B} receptors. *Neuropharmacology*, 41(2):282-284.
- [218] Vera-Portocarrero LP, Zhang E-T, King T, Ossipov MH, Vanderah TW, Lai J, and Porreca F (2007). Spinal NK-1 receptor expressing neurons mediate opioid-induced hyperalgesia and antinociceptive tolerance via activation of descending pathways. *Pain*, 129(1-2):35-45.
- [219] Liang D-Y, Liao G, Lighthall GK, Peltz G, and Clark DJ (2006). Genetic variants of the P-glycoprotein gene *Abcb1b* modulate opioid-induced hyperalgesia, tolerance and dependence. *Pharmacogenetics and genomics*, 16(11):825-835.
- [220] Liang D-Y, Liao G, Wang J, Usuka J, Guo Y, Peltz G, and Clark JD (2006). A genetic analysis of opioid-induced hyperalgesia in mice. *Anesthesiology: The Journal of the American Society of Anesthesiologists*, 104(5):1054-1062.
- [221] Liang D-Y, Guo T, Liao G, Kingery WS, Peltz G, and Clark JD (2006). Chronic pain and genetic background interact and influence opioid analgesia, tolerance, and physical dependence. *Pain*, 121(3):232-240.
- [222] Kia HK, Miquel M-C, McKernan RM, Laporte A-M, Lombard M-C, Bourgoin S, Hamon M, and Vergé D (1995). Localization of 5-HT₃ receptors in the rat spinal cord: immunohistochemistry and in situ hybridization. *Neuroreport*, 6(2):257-261.
- [223] Nowak P and Roczniak W (2011). Interaction between central noradrenergic system and serotonergic 5-HT₃ receptor mediated analgesia in rats. *Pharmacological Reports*, 63(2):592-593.

- [224] Mann JJ, McBride PA, Brown RP, Linnoila M, Leon AC, DeMeo M, Mieczkowski T, Myers JE, and Stanley M (1992). Relationship between central and peripheral serotonin indexes in depressed and suicidal psychiatric inpatients. *Arch Gen Psychiatry*, 49(6):442-6.
- [225] Strickland PL, Deakin JFW, Percival C, Dixon J, Gater RA, and Goldberg DP (2002). Bio-social origins of depression in the community - Interactions between social adversity, cortisol and serotonin neurotransmission. *British Journal of Psychiatry*, 180:168-173.
- [226] Pierce P, Xie G-X, Meuser T, and Peroutka S (1997). 5-Hydroxytryptamine receptor subtype messenger RNAs in human dorsal root ganglia: a polymerase chain reaction study. *Neuroscience*, 81(3):813-819.
- [227] Matthys A, Haegeman G, Van Craenenbroeck K, and Vanhoenacker P (2011). Role of the 5-HT7 receptor in the central nervous system: from current status to future perspectives. *Molecular neurobiology*, 43(3):228-253.
- [228] McCallum JB, Kwok W-M, Mynlieff M, Bosnjak ZJ, and Hogan QH (2003). Loss of T-type calcium current in sensory neurons of rats with neuropathic pain. *Anesthesiology: The Journal of the American Society of Anesthesiologists*, 98(1):209-216.
- [229] Liu J, Reid AR, and Sawynok J (2013). Spinal serotonin 5-HT7 and adenosine A1 receptors, as well as peripheral adenosine A1 receptors, are involved in antinociception by systemically administered amitriptyline. *European journal of pharmacology*, 698(1-3):213-219.
- [230] Yesilyurt O, Seyrek M, Tasmemir S, Kahraman S, Deveci MS, Karakus E, Halici Z, and Dogrul A (2015). The critical role of spinal 5-HT7 receptors in opioid and non-opioid type stress-induced analgesia. *European journal of pharmacology*, 762:402-410.
- [231] Harte SE, Kender RG, and Borszcz GS (2005). Activation of 5-HT1A and 5-HT7 receptors in the parafascicular nucleus suppresses the affective reaction of rats to noxious stimulation. *Pain*, 113(3):405-415.
- [232] Brenchat A, Nadal X, Romero L, Ovalle S, Muro A, Sánchez-Arroyos R, Portillo-Salido E, Pujol M, Montero A, and Codony X (2010). Pharmacological activation of 5-HT7 receptors reduces nerve injury-induced mechanical and thermal hypersensitivity. *Pain*, 149(3):483-494.
- [233] Iceta R, Mesonero J, Aramayona J, and Alacade A (2009). Expression of 5-HT1A and 5-HT7 receptors in Caco-2 cells and their role in the regulation of serotonin transporter activity. *Acta physiologica Polonica*, 60(1):157.
- [234] Bosker FJ, Folgering JH, Gladkevich AV, Schmidt A, Van Der Hart MC, Sprouse J, Den Boer JA, Westerink BH, and Cremers TI (2009). Antagonism of 5-HT1A receptors uncovers an excitatory effect of SSRIs on 5-HT neuronal activity, an action probably mediated by 5-HT7 receptors. *Journal of neurochemistry*, 108(5):1126-1135.
- [235] Krobert KA, Andressen KW, and Levy FO (2006). Heterologous desensitization is evoked by both agonist and antagonist stimulation of the human 5-HT7 serotonin receptor. *European journal of pharmacology*, 532(1-2):1-10.

- [236] Viguier F, Kayser V, Hamon M, and Bourgoïn S (2012). 5-HT7 receptor-mediated modulation of nociceptive primary afferent fibers involves GABAA receptors, Cl⁻ transport dynamics and T-type Ca²⁺ channels. *In:14th World Congress of Pain*.
- [237] Godinez-Chaparro B, López-Santillán F, Orduna P, and Granados-Soto V (2012). Secondary mechanical allodynia and hyperalgesia depend on descending facilitation mediated by spinal 5-HT₄, 5-HT₆ and 5-HT₇ receptors. *Neuroscience*, 222:379-391.



EKLER

Ek: Etik Kurul Kararı

**T.C.
CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU**

05.01.2017

Sayı : 65202830-050.04.04-44
Konu : Etik Kurul Kararı.

Sayın
Doç.Dr. Ercan ÖZDEMİR
Tıp Fakültesi
Fizyoloji A.D

Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu 05.01.2017 tarihinde Prof. Dr. Haki KARA başkanlığında toplanarak aşağıdaki kararları almıştır:

Doç.Dr. Ercan ÖZDEMİR'in yürütücülüğünü yapmış olduğu ve yardımcıları Yrd.Doç Dr. Erkan GÜMÜŞ Arş.Gör. Ahmet Şevki TAŞKIRAN Arş.Gör Handan GÜNEŞ Öğr.Gör. Şeyma ÖZSOY'un 22.12.2016 tarih ve 01 sayılı "Serotonin Reseptörleri 5HT1A, 5HT3 ve 5HT7 nin sıçanlarda morfin analjezisi ve toleransına etkiler." ismi verilen çalışmasının, kendi talebi doğrultusunda "Serotonin Reseptörleri 5HT3 ve 5HT7 nin sıçanlarda morfin analjezisi ve toleransına etkiler." şeklinde değiştirilmesi Etik Kurulumuzca kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Eray BULUT
Üye

Prof. Dr. Mustafa TUKAN
Üye

Prof. Dr. Zübeyda Akın POLAT
Üye

Prof. Dr. İhsanullah BEZOĞLU
Üye

Yrd. Doç. Dr. Bülent SARAC
Üye

Yrd. Doç. Dr. M. Önder KARAYIĞIT
Üye

Yrd. Doç. Dr. Erhan YUKSEL
Üye

Yrd. Doç. Dr. Hakan İSİDAN
Üye

Uz. Vet. Hek. Yücel YALMAN
Üye - Başkanvekil

Ozcan KARATAŞ
Sivil Üye

Hilmi GÜL
Sivil Üye

Prof. Dr. Haki KARA
Başkan

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel bilgiler

Adı Soyadı	Şeyma ÖZSOY
Doğum Yeri ve Tarihi	Çorum-1983
Medeni Hali	Evli
Yabancı Dil	İngilizce
İletişim Adresi	Cumhuriyet Üniversitesi, Fiziyojji Anabilim Dalı, Sivas
E-posta Adresi	seyma.ozsoy@hotmail.com

Eğitim ve Akademik Durumu

Lisans	İstanbul Üniversitesi Biyoloji Bölümü, 2005
Yüksek Lisans	Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Fiziyojji Anabilim Dalı, 2011
Ünvan	Öğretim Görevlisi

İş Tecrübesi

Çorum Özel Hastanesi	Biyolog, 2005-2006
Çorum Diyaliz Merkezi	Biyolog, 2006-2007
Tokat GOÜ Tıp Fakültesi	Biyolog, 2007-2011
Tokat GOÜ Tıp Fakültesi	Öğretim Görevlisi, 2011-

Yayınlar

Kurt S, Aygün H, Özsoy Ş, Çevik B, Aksoy D, Sümbül O (2019). The importance of hypothermia in the effect of paracetamol on the electrical activity of the brain in pentylenetetrazole-induced experimental status epilepticus in rats. European Journal of Neurology, 26, 403.

Özsoy Z, Gevrek F, Özsoy Ş, Daşırın MF, Akgül G, Yenidoğan E (2018). Effect of β -glucan on acetic acid-induced colitis in rats. International Journal of Clinical and Experimental Medicine, 11(8), 7775-7787.

Gevrek F, Aydın D, Özsoy Ş, Aygün H, Biçer Ç (2017). Inhibition by Egb761 of the effect of cellphone radiation on the male reproductive system. Bratislava Medical Journal- Bratislavske Lekarske Listy, 118(11), 676-683.

Özsoy Z, Özsoy Ş, Gevrek F, Demir E, Benli İ, Daldal E, Yenidoğan E (2017). Effect of bevacizumab on acetic acid-induced ulcerative colitis in rats. Journal of Surgical Research, 216, 191-200.

Özsoy Z, Kayaoğlu HA, Özkan N, Özsoy Ş, Yaylak F, Yenidoğan E (2015). The Effect of Methylprednisolone and Tenoxicam on the Protection of Damage of the Nerve Physiomorphology Caused by Prolene Mesh. International Journal of Surgery, 22, 159-163.

Özsoy Ş, Aydın D, Ekici F (2015). Effects of modafinil on pentylenetetrazol induced convulsive epilepsy. Bratislava Medical Journal-Bratislavske Lekarske Listy, 116(3), 162-166.

Bilginoğlu A, Aydın D, Özsoy Ş, Aygün H (2014). Protective Effect of Melatonin on Adriamycin Induced Cardiotoxicity in Rats. Turkish Aociety of Cardiology, 42(3), 265-273.

Bildiriler

Gevrek F, Aydın D, Özsoy Ş, Aygün H, Biçer Ç, Aslan H. Cep Telefonu Elektro Manyetik Radyasyonuna Maruz Sıçanların Testis Dokularında EGB761'in Koruyucu Etkisi 22. Elektron Mikroskopi Kongresi. S3, 2015.

Gevrek F, Aydın D, Biçer Ç, Özsoy Ş, Aygün H, Çaylı S, Hüseyin A. Cep Telefonundan Yayılan Elektromanyetik Dalgalara Maruz Sıçanların Sperm Hücrelerine Ginkgo Bilobanın Koruyucu Etkisi. XII. National Histology And Embryology Congress. P097, s184, 2014.

Özsoy Ş, Aygün H, Aydın D, Ekici F. Modafinilin Sıçanlarda Oluşturulan Absans Epilepsi Üzerine Etkileri 40. Ulusal Fizyoloji Kongresi. S14, s33, 2014.

Özsoy Ş, Aydın D, Aygün H, Çaylı S. Solunum Yoluyla Transfluthrine Maruz Bırakılan Sıçanların Beyinlerinde Oluşan Biyokimyasal ve Histopatolojik Değişimler Üzerine Ginkgo Biloba'nın Etkileri. 40. Ulusal Fizyoloji Kongresi. S19, p38, 2014.

Özsoy Ş, Aygün H, Yiğittürk G, Erbaş O. Alzheimer Modeli Geliştirilmiş Sıçanlarda Edaravon'un Kognitif Fonksiyonlara Etkisi. 26. Ulusal Biyofizik Kongresi. S5, s20, 2014.

Özsoy Ş, Aygün H, Ateş U, Erbaş O. Alzheimer Modeli Geliştirilmiş Sıçanlarda Tetanus Toksinin Kognitif Fonksiyonlara Etkisinin Gösterilmesi. 26. Ulusal Biyofizik Kongresi. S6, s20-21, 2014.

Aydın D, Aygün H, Ekici F, İnanır S, İnanır A, Dane Ş, Baykan H, Özsoy Ş. Absans epilepsili WAG/Rij sıçanlarda kısa, orta ve uzun süreli yüzme egzersizinin epileptik aktivite üzerine etkileri. 11. Ulusal Sinirbilim kongresi. P008, s119, 2013.

Bilginoğlu A, Aydın D, Özsoy Ş, Aygün H, Çelik A. Sıçanlarda Adriyamisinin Oluşturduğu Kardiyotoksosite Üzerine Melatoninin Etkisi. 25. Ulusal biyofizik kongresi. P, s52, 2013.

Ozsoy S, Çakıl D, Ekici F. The Effect of Modafinil on Convulsive Epilepsy in Rats. 14th National Congress of Anatomy. P8, s127, 2012.

Cakil D, Ozsoy S, Cayli S, Tas U, Sogut E, Karaca Z.I Effects of Ginkgo Biloba on biochemical and histopathological changes in the lungs of rats exposed to Transfluthrin by inhalation. 14th National Congress of Anatomy. P15, s129, 2012.

Projeler

Modafinilin Sıçanlarda Oluşturulan Absans ve Konvulsif Epilepsiler Üzerine Etkileri. Gaziosmanpaşa Üniversitesi BAP, 2010/86, Proje araştırmacısı, 2010 -2012.

Solunum Yoluyla Transfluthrine Maruz Bırakılan Sıçanlarda Oluşabilecek Biyokimyasal ve Histopatolojik Değişimler Üzerine Ginkgo Bilobanın Etkisi. Gaziosmanpaşa Üniversitesi BAP, 2011/56, Proje araştırmacısı, 2011-2013.

Modafinilin Absans Epilepsili Wag/Rij Sıçanlarda Öğrenme Üzerine Etkisi. Gaziosmanpaşa Üniversitesi BAP, 2012/101, 2012-2014.

Cep telefonundan yayılan elektromanyetik dalgalara maruz bırakılan sıçanlar üzerine ginkgo bilobanın etkisi. Gaziosmanpaşa Üniversitesi BAP, 2013/61, Proje araştırmacısı, 2013-2015.

İntraperitoneal ve oral Beta glukan kullanımının asetik asit (AA) ile indüklenmiş kolit üzerine etkisi. Gaziosmanpaşa Üniversitesi BAP, 2014/47, Proje araştırmacısı, 2014-2016

İntraperitoneal Bevacuzimab kullanımının asetik asit (AA) ile indüklenmiş kolit üzerine etkisi. Gaziosmanpaşa Üniversitesi BAP, 2014/48, Proje araştırmacısı, 2014-2016

Alzheimer Modeli Geliştirilmiş Sıçanlarda Thymoquinonun Uygulanmasının Etkileri". Gaziosmanpaşa Üniversitesi BAP, 2015/106, Proje araştırmacısı, 2015-2019.

Pentilentetrazol ile oluşturulan deneysel status epileptikus modelinde, parasetamolün beyin elektriksel aktivitesine olan etkisinde hipoterminin yeri. Gaziosmanpaşa Üniversitesi BAP, 2016/73, 2016-2018.

Serotonin Reseptörleri 5-HT₃ ve 5-HT₇'nin Sıçanlarda Morfin Analjezisi ve Toleransına Etkileri. Cumhuriyet Üniversitesi CÜBAP, T-735, 2017-2019.