

T.C
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

SIÇANLARDA GEBELİĞİN SON DÖNEMİNDE VE DOĞUMDA
OKSİTOSİN SALGILANMASININ MÜ VE KAPPA OPIOİD
RESEPTÖRLERİ TARAFINDAN DÜZENLENMESİ

DOKTORA TEZİ

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ

Selim KUTLU

F.Ü. TIP FAKÜLTESİ FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI

DANIŞMANLAR

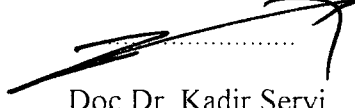
Prof. Dr. Haluk KELEŞTİMUR
Yard. Doç. Dr. Bayram YILMAZ

103286

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ

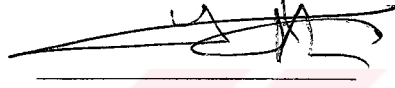
ELAZIĞ-2001

ONAY SAYFASI



Doç Dr. Kadir Servi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü ✓

Bu tez Doktora Tezi standartlarına uygun bulunmuştur.



Prof. Dr. Haluk Keleştimur
Fizyoloji Anabilim Dalı Başkanı

Tez tarafımdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden doktora tezi olarak kabul edilmiştir.



Prof. Dr. Haluk Keleştimur



Yard. Doç. Dr. Bayram Yılmaz

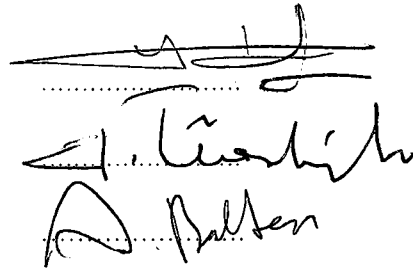
Danışmanlar

Doktora sınavı jüri üyeleri

Prof. Dr. Haluk Keleştimur

Prof. Dr. Abdülbaki Türkoğlu

Yard. Doç. Dr. Abdülkerim K. Baltacı



TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim süresince, engin akademik deneyim ve bilimsel birikimleriyle her türlü yardım ve desteklerini esirgemeyen danışman hocalarım Fizyoloji Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Haluk Keleştimur ve Fizyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Sayın Yard. Doç. Dr. Bayram Yılmaz'a,

Deneyleirimim gerçekleştirilmesinde her zaman yardımcı olan Fizyoloji Anabilim Dalı Araştırma Görevlileri Sinan Canpolat, Süleyman Sandal ve Kürşat Poyraz ile Biyofizik Anabilim Dalı Öğretim Görevlisi Mete Özcan'a,

Yine akademik yardım ve desteklerinden dolayı Biyofizik Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Abdülbaki Türkoğlu'na, Biyofizik Anabilim Dalı Öğretim Üyeleri Sayın Prof. Dr. Gıyasettin Baydaş ve Sayın Yard. Doç. Dr. Oğuz Özçelik'e ,

Değişik yaklaşımlarıyla deneyleirimim dizaynına katkıda bulunan Farmakoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Sayın Yard. Doç. Dr. Ahmet Ayar, Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Sayın Yard. Doç. Dr. Selahattin Kumru, Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyeleri Sayın Yard. Doç. Dr. Abdülkerim Kasım Baltacı ve Sayın Yard. Doç. Dr. Rasim Moğulkoç'a en içten teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER	iv
KISALTMALAR LİSTESİ	v
1. ÖZET	1
2. ABSTRACT	2
3. GİRİŞ	3
3.1 Hipotalamo-Nörohipofizeal Sistem	3
3.1.1. Yapısal Özellikleri	3
3.1.1.1. Supraoptik Nükleus	3
3.1.1.2. Paraventriküler Nükleus	4
3.1.1.3. Nörohipofiz	4
3.1.2. Magnoselüler Nöronların Elektrofizyolojik Özellikleri	5
3.1.2.1. Magnoselüler Nöronlardaki Ca ¹² Kanalları	5
3.1.2.2. Magnoselüler Nöronlardaki Elektrofizyolojik Olaylar	5
3.1.3. Oksitosin Salgılanmasının Özellikleri	6
3.2. Magnoselüler Nöron Fonksiyonlarını Etkileyen Nörotransmitterler	7
3.2.1. Noradrenalin	7
3.2.2. Dopamin	9
3.2.3. Glutamat	9
3.2.4. Gammaaminobutirikasit	10
3.2.5. Kolesistokinin	10
3.2.6. Nitrik Oksit	12
3.2.7. Histamin	12
3.3. Opioid Peptitler ve Hipotalamo-Nörohipofizeal Sistem	13
3.3.1. Opioidlerin Etki Mekanizmaları	14
3.3.1.1. Nörohipofizeal Düzeyde Opioid Etkiler	14
3.3.1.1.1. Nörohipofizdeki Endojen Opioidler	14
3.3.1.1.2. Opiyatların Gebelik ve Diğer Süreçlerde Nörohipofizdeki Etkileri	15
3.3.1.2. Gebelik ve Diğer Süreçlerde Magnoselüler Nöronlardaki Opioid Etkiler	16
3.3.1.2.1. Oksitosin Nöronlarına Gelen Santral Endojen Opioid İnteraksiyonları	16
3.3.1.2.2. Opioidlerin Oksitosin Hücreleri Üzerindeki Elektrofizyolojik Etkileri	17

3.3.1.2.3. Nükleus İçi Oksitosin Sekresyonunun Opiod İnhibisyonu	18
3.3.1.2.4. C-Fos Protein Sentezinin İnhibisyonu	18
3.3.1.2.5. Hipotalamustaki Presinaptik Uçlardan Noradrenalin Salıverilmesinin Opioidlerce Baskılanması	19
3.3.1.2.6. Oksitosin Nöronlarının Morfin Bağımlılığı ve Toleransı	19
3.3.2. Gebelikte Hipotalamik Endojen Opioidlerin ve Steroit Hormonlarının Seyri	20
Amaç	21
4. GEREÇ VE YÖNTEM	22
4.1. Dency Hayvanlarının Bakım ve Beslenmeleri	22
4.2. Dency Protoköü	23
4.2.1. Dency Gurupları	23
4.2.2. Vajinal Simir ve Gebeliğin Sağlanması	24
4.2.3. İntraserebroventriküler İnfüzyon	24
4.2.4. Kan ve Beyin Dokularının Elde Edilmesi	25
4.2.5. Mikrodiseksiyon ve Mikropanç İşlemleri	25
4.2.6. Beyin Dokularının Ekstraksiyonu	26
4.3. Analiz İşlemleri	26
4.3.1. Oksitosin Ölçümü	26
4.3.2. β endorfin Ölçümü	27
4.3.3. Östrojen ve Progesteron Tayinleri:	27
4.3.4. Monoamin Tayinleri	27
4.3.4.1. Total Protein Tayini	28
4.3.4.2. Noradrenalin ve Dihidroksifenilglükol Tayini	28
5. BULGULAR	33
5.1. Birinci Protokol Serum Oksitosin ve Plazma Beta Endorfin Düzeyleri	33
5.2. Birinci Protokol Serum Östrojen ve Progesteron Düzeyleri:	33
5.3. İkinci Protokol Serum Oksitosin Değerleri	33
5.4. Supraoptik Nükleus Monoamin Konsantrasyonları	34
5.5. Paraventriküler Nükleus Monoamin Konsantrasyonları	35
5.6. Nörohipofiz Monoamin Konsantrasyonları	35
6. TARTIŞMA VE SONUÇ	44
7. KAYNAKLAR	49
8. ÖZGEÇMİŞ	81

KISALTMALAR LİSTESİ

ARN	: Arkuat nükleus
CCK	: Kolesistokinin
DA	: Dopamin
DHBA	: Dihidroksibenzilamin
DHPG	: Dihidroksifenilglükol
GABA	: Gammaaminobütirikasit
HPLC-ECD	: High Performance Liquid Chromatography with Electrochemical Detection
ICV	: İntraserebroventriküler
MN	: Magnoselüler nöron
NH	: Nörohipofiz
NRB	: Nor-binaltorphimine
NTS	: Nükleus traktus solitarius
OT	: Oksitonin
POMC	: Proopiomelanokortin
PVN	: Paraventriküler nükleus
RIA	: Radyoimmünoassay
SON	: Supraoptik nükleus
VLM	: Ventrolateral medulla
VP	: Vazopressin

1. ÖZET

Opioidlerin, hipotalamustaki oksitosin hücrelerinin nörosekretuar fonksiyonları üzerinde baskılayıcı etkilerinin olduğu bilinmektedir. Bu etkinin mekanizması hakkında değişik fikirler ileri sürülmüştür. Bu çalışma, gebeliğin son döneminde ve doğum sırasındaki sıçanlarda, oksitosin, östrojen, progesteron ve β endorfin seviyelerindeki farklılıklarla birlikte, μ ve κ opioid reseptörlerin oksitosin salgılanması ve hipotalamustaki noradrenerjik nörotransmisyon üzerindeki etkilerini araştırmak amacıyla yapılmıştır.

Gebeliğin 20 ve 21. günüyle doğum sırasındaki 3 grup sıçan dekapite edilerek serum oksitosin ve plazma β endorfin seviyeleri radyoimmünoassay, serum östrojen ve progesteron düzeyleri de enzim immünoassay ile tayin edildi. Yine gebeliğin 20. günündeki diğer hayvanlar 5 guruba ayrıldı. Anestezi altında intraserebroventriküler yolla, kontrol gurubuna serum fizyolojik, diğer guruplara da μ agonist, μ antagonist, κ agonist ve κ antagonist opiyatlar 50 $\mu\text{g}/\text{kg}/10 \mu\text{l}$ dozunda 2 dakikalık infüzyonla uygulandı. 20 dakika sonra bütün hayvanlar dekapite edilerek kan örnekleri oksitosin tayini için alındı. Beyin dokuları mikrotomda dilimlenerek hipotalamustan supraoptik ve paraventriküler nükleuslar *micro-punc* yöntemiyle, nörohipofizler de diseksiyonla çıkarıldı. Her iki nükleusta ve nörohipofizde noradrenalin ve dihidroksifenil glikol konsantrasyonları HPLC'de tayin edildi. Oksitosin ve östrojen düzeyleri gebeliğin son döneminde ve doğum gurubunda birbirine yakın değerlerdeyken, progesteron ve β endorfin seviyelerinin belirgin şekilde azaldığı görüldü. μ antagonist gurubunda oksitosin düzeyinde anlamlı bir artma ve κ agonist gurubunda düşme gözlemlendi. Diğer guruplarda oksitosin düzeyi değişmedi. Hipotalamustaki noradrenalin konsantrasyonu sadece μ antagonist gurubunda artma gösterdi. Diğer guruplardaki noradrenalin düzeyi ise birbirine yakın değerlerdeydi. Dihidroksifenilglikol konsantrasyonlarında hiçbir gurupta farklılık ortaya çıkmadı.

Sonuç olarak, gebeliğin son döneminde oksitosin nöronları üzerinde, noradrenerjik nörotransmisyon aracılı önemli bir μ opioid baskılamasının olduğu ileri sürülebilir. μ reseptörlere etkili opioid olan β endorfin seviyesinin doğuma doğru azalması bu kanıtı güçlendirmektedir. Progesterondaki düşme, β endorfin seviyesindeki azalmayı indükleyebilir.

Anahtar kelimeler: Oksitosin, opioid, gebelik, sıçan.

2. ABSTRACT

Opioids have inhibitory effects on the neurosecretory functions of the oxytocin cells in the hypothalamus. Different insights have been suggested about the mechanism of this effect. The present study was carried out to investigate the effects of μ and κ opioid receptors on the noradrenergic neurotransmission in the hypothalamus and the blood levels of oestrogen, progesterone, oxytocin and β -endorphin in late pregnant and parturient rats.

The blood hormone levels were determined (Oxytocin and β endorphin by radioimmunoassay, oestrogen and progesterone by enzyme immunoassay) in 20 and 21 daily pregnant and parturient rats following decapitation. The others in the 20th day of pregnancy separated to five groups. The animals were anaesthetised with chloral hydrate. μ and κ receptor agonists and antagonists were intracerebroventricularly administered at 50 $\mu\text{g}/\text{kg}/10 \mu\text{l}$ saline doses in a period of two minutes. The control group received saline alone. After 20 minutes, all rats were decapitated and trunk blood was collected for determination of serum oxytocin levels. The brains were rapidly removed and frozen on dry ice. Brain slices were cut, and supraoptic and paraventricular nuclei were isolated by micro-punch. The neurohypophysis was removed by dissection. Noradrenaline and dihydroxyphenil glycol concentrations in both hypothalamic nuclei and neurohipophysis were detected by HPLC-ECD. Progesterone and β endorphin levels were significantly reduced in parturient group, while oxytocin and oestrogen levels were similar in late pregnant and parturient rats. An apparent increase occurred in oxytocin levels in the μ antagonist-treated animals and there was a decrease in κ agonist group. Oxytocin levels did not significantly differ in all other groups. Noradrenaline concentrations were elevated in only the μ antagonist group. There was no significant difference in the dihydroxyphenilglycol levels between the groups.

In conclusion, it is suggested that there is a μ opioid restriction mediating noradrenergic neurotransmission on the oxytocin neurones in the late period of pregnancy. A decrease in β endorphin (which acts through μ opioid receptors) levels towards parturition appears to support to this suggestion. It is possible that the dramatically decreased serum progesterone levels may be the cause for reduced β endorphin tone.

Key words: Opioid, oxytocin, pregnancy, rat.

3. GİRİŞ

3.1. Hipotalamo-Nörohipofizeal Sistem

Hipotalamusta bulunan supraoptik nükleus (SON) ve paraventricüler nükleus (PVN)'lardaki nöronlar, vazopressin (VP) ve oksitosin (OT) nörohormonlarını sentezleyerek (331, 332, 333), bu peptitleri hipofiz arka lobu (NH)'ndaki aksonal uçlara taşırlar (304). Her bir nöron NH'e tek bir akson gönderir (269) ve her akson ucu da 2000-10000 varikoziteye sahiptir (140, 324). Nöral lopta depolanan hormonlar akson terminallerindeki varikozitelerden salınarak kapillerler yoluyla dolaşıma katılırlar (122). Bu nöronlara magnoselüler nöronlar (MN), bu yapıya da Hipotalamo-Nörohipofizeal Sistem denmektedir.

Parvoselüler nörosekretuar sistem; paraventricüler ve arkuat nükleus (ARN) nöronlarına ilaveten, hipotalamik ve preoptik periventricüler tabaka, medial septal nükleus ve brokanın diagonal bant nükleusu boyunca yayılan hücrelerden meydana gelir (250). Parvoselüler nöronlar, medyan eminensin dış tabakasındaki akson uçlarından salınan faktörlerle, hipofiz ön lobe hormonlarının sekresyonunu denetlerler (319).

3.1.1. Yapısal Özellikleri

3.1.1.1. Supraoptik Nükleus

SON'un çok büyük bir bölümü ön tarafta optik kiyazmanın her iki yanında dağılmış, geniş ve koyu boyanan nöronlar olarak kıvrık şekilde başlar. Kuyruk şeklinde yoğunlaşarak optik traktusun yan sınırına dayanır. Arka bölgede, optik yolla SON'dan ayrılan retrokiyazmatik uzantı, 3. ventrikül ve optik traktus arasında uzanır ve ince bir nöron tabakası olarak lokalize olur (250).

Nükleus içindeki OT nöronları genel olarak anterodorsal, VP nöronları ise posteroventral olarak yerleşmiştir (312, 331). VP nöronları OT nöronlarından sayıca hafif şekilde fazla olsa da, nükleusun geniş alanı her iki hormonun sentezi için yeterli sahayı oluşturur. SON nöronlarının büyük çoğunluğu ya OT ya da VP sentezler. Laktasyon dönemindeki sıçanlarda ise MN'ın % 15-20'sinde OT ve VP beraber bulunmaktadır (211).

Basit bir hücre yapısı sergileyen SON ve retrokiyazmatik uzantı nöronları, yumurta şeklindeki yuvarlak gövdelere ve 2-3 tane primer dendrite sahiptirler (122, 222). Ventral olarak projeksiyon gösteren ve nadiren dallanan dendritler, gelen aksonlar için alıcı bir pleksus yapmak üzere pial mesafe ve hücre gövdeleri arasındaki bir tabaka içinde toplanırlar (11, 304). Gövdeler, düzensiz şekilli uzantılar nedeniyle yuvarlak bir görünüme sahiptirler (268, 303).

3.1.1.2. Paraventriküler Nükleus

PVN hücre yapısı olarak SON' a karşılaştırılınca daha komplekstir (314). SON'dan farklı olarak, nöral loba aksonlar gönderen magnoselüler OT ve VP hücreleriyle birlikte, medyan eminensin dış tabakasına ulaşarak kortikotropin salgılatıcı hormon ve VP sekrete eden (25, 319, 320) parvoselüler nöronlar ihtiva etmektedir. Aynı zamanda PVN, Merkezi Sinir Sistemi'nin diğer bölgelerine projeksiyonlar gönderen küçük ve orta büyüklükteki parvoselüler nöron gruplarına sahiptir ve bu nöronlar OT ve VP salgılayarak üreme ve sosyal davranışların düzenlenmesinde rol oynarlar (48, 163, 305, 313).

Hipofizin nöral lobuna aksonlar gönderen PVN'daki nöronların çoğu, yanyana iki gurup içinde yer alır. Mediyal magnoselüler bölüm büyük oranda OT nöronlarından oluşur ve nükleus içinde anterodorsal olarak yerleşirken, lateral magnoselüler bölüm genelde VP nöronları içerir ve top şeklinde ayrı ve yoğun bir kitle halinde dorsolateral ve posterior bölgede lokalize olur (124).

MN, genellikle basit dallanmalara sahip 2-3 dendritli tipik hücreler olarak SON'daki karşılıklarıyla benzer görünüme sahiptirler (13, 123, 277, 328). Kalın dendritler giderek incelerek, nükleusun mediyal bölümünde 3. ventrikül duvarına ara sıra invaze olan yoğun bir pleksus halini alırlar (11, 147, 304). Bu mediyal ve geniş parvoselüler bölge aksonal inputlardan zengindir (328). PVN, SON'a oranla daha yoğun afferent bağlantılara sahiptir (122).

3.1.1.3. Nörohipofiz

Nörohipofiz diensefalik dokudan derive olur ve nöral lop, hipofiz sapı ve medyan eminensin iç tabakasından meydana gelir. Nöral sap, OT ve VP nöronlarından orijin alan

ve medyan eminensin iç tabakasında bulunan aksonların distal devamlılığıdır (250). Nöral lop yapısı, bu aksonların dallanmaları, zengin damar ağı ve gliyal hücrelerle (pitüisit) karakterizedir. Nöral lop içindeki OT lifleri genellikle periferik dağılırken, VP lifleri merkezde lokalize olur (334). Nöral loba, nükleus traktus solitarius (NTS)'daki beyin kökü katekolamin nöronlarından (111) ve rostral periventriküler dopamin (DA) nöronlarından (150) inputlar gelmektedir.

3.1.2. Magnoselüler Nöronların Elektrofizyolojik Özellikleri

MN'in somalarında oluşan aksiyon potansiyelleri, NH'deki aksonal uçlara ulaştıklarında, voltaj bağımlı Ca^{+2} kanallarını açarak hücre içine Ca^{+2} girişini tetiklerler ve sitozolik Ca^{+2} 'un artmasıyla OT ve VP'in ekstraselüler aralığa ve dolayısıyla sistemik dolaşıma geçişini sağlarlar (10, 37, 58, 59, 122).

3.1.2.1. Magnoselüler Nöronlardaki Ca^{+2} Kanalları

SON'daki MN'in farklı biyofiziksel ve farmakolojik özelliklerine dayanılarak, voltaja duyarlı Ca^{+2} kanallarının birçok türünü eksprese ettikleri gösterilmiştir (101, 104). Bunlar düşük voltaj aktiveli T tipi ve yüksek voltaj aktiveli L, N, P, Q ve R tipi Ca^{+2} kanallarıdır. Hipofiz arka lobunda bulunan aksonal uçlarda sadece yüksek voltaj aktiveli Ca^{+2} kanallarının eksprese edildiği bulunmuştur (165, 166). Nörohipofizde, somatik akımlardan farklı biyofiziksel ve farmakolojik özelliklere sahip L tipi ve hızlı inaktive edici N tipi (165) ile P tipi (102) kanal akımlarının olduğu belirlenmiştir. Bu farklılıklar, hipotalamustaki biyoelektriksel MN aktivitesinin ve arka loptaki terminallerde nörosekresyon fonksiyonları için gereken Ca^{+2} bağımlı olayları yansıtması açısından önemlidir (103).

3.1.2.2. Magnoselüler Nöronlardaki Elektrofizyolojik Olaylar

Magnoselüler hücre somalarındaki aksiyon potansiyelleri hem Na^{+} hem de voltaj bağımlı Ca^{+2} akımlarıyla oluşur (34, 206). Repolarizasyon fazı tipik olarak zaman ve frekans bağımlı aksiyon potansiyel genişlemesi sergiler (6, 34). Aksiyon potansiyel süresinin benzer modülasyonu akson uçlarında da ortaya çıkmaktadır (31). Nörosekretuar terminaller, intrinsik ve tekrarlayan biyoelektriksel hareketlenmeyi devam ettiremedikleri

için, OT ve VP sekresyonu primer olarak hücre gövdelerinde başlayan aksiyon potansiyellerle tayin edilir (31).

Elektriksel uyarımla oluşturulan biyoelektriksel aktifleşme VP nöronlarında fazik kalıplar halinde yani aksiyon potansiyel patlamalarının (burst) sakin periyotlarla bölünmesi şeklinde seyrederken, elektrofizyolojik hareketlenmenin süreklilik göstermesi OT hücrelerinin tipik özelliği olarak ortaya çıkmaktadır (18, 258, 342, 360). İntak hayvanların OT nöronlarında sadece doğum ve emzirme sırasında patlama tarzında ateşlenmeler (firing) meydana gelir (276, 309, 340). Devamlı bir şekilde uygulanan orta şiddetteki düzenli uyarımlar sırasında VP sekresyonu sürekli olarak azalırken, OT sekresyonu nispeten aynı devam eder ve uzun bir süre sonra azalmaya başlar (17). VP nöronlarındaki fazik aktifleşmeler hücreler arasında senkronize bir tarzda olmadığı için (170), VP salgılanması pulsatil olmaktan çok devamlı karakterdedir.

MN'daki fazik hareketlenmenin oluşumuna katılan önemli olaylardan biri, aksiyon potansiyeli takip eden yavaş bir depolarizasyon yani depolarize edici art-potansiyeldir (5, 6, 12, 29, 32, 177). Fazik hareketlenme ve depolarize edici art-potansiyeller ekstraselüler Ca^{12} 'un azalmasıyla, Ca^{12} kanallarının blokajıyla ve sitozolik serbest Ca^{12} 'un şelasyonu ile yok edilebilmektedir (133, 177, 179). MN'da oluşan tek aksiyon potansiyelleri, Ca^{12} bağımlı K^1 iletkenliğinin aktivasyonu ile oluşan hiperpolarize edici art-potansiyellerle takip edilir (12, 30, 33, 156). Bu K^1 iletkenliğine geçici bir dışı doğru K^1 akımı aracılık etmektedir (30).

3.1.3. Oksitosin Salgılanmasının Özellikleri

Doğum sırasında NH'den artan oranlarda salgılanan OT, uterus kontraksiyonlarını iletir ve doğumun gerçekleşmesinde önemli rol oynar. Laktasyonda ise emme uyarımına yanıt olarak OT sekrete edilir ve meme bezlerinden sütün boşalması indüklenir. Bu iki fizyolojik uyarım sırasında meydana gelen oksitosinerjik sistemin aktivite kalıbındaki benzerlikler, OT'in dolaşıma pulsatil karakterde salınımına yol açan (127, 309), laktasyon döneminde (258, 340) ve fötüslerin doğumundan az önce (309) ortaya çıkan OT nöronlarının yüksek frekanslı deşarjlarıyla kendini gösterir. Gebeliğin sonuna kadar hipofizdeki OT depoları yaklaşık %30 oranında artar ve bu fazlalığın tümü doğumun sonunda tükenmiş olur (107). Doğumun başlaması sirkadiyan bir özellik gösterebilir (283).

Çünkü SON ve PVN, suprakiazmatik nükleustan (50, 73) ve retinadan (72) projeksiyonlar almaktadır. Ayrıca pinealektomi, ozmotik olarak stimüle edilmiş OT sekresyonunu etkileyebilmektedir (355).

İnsanlarda (56, 223) ve tavşan ve sıçanlarda (308) seksüel aktivite esnasında da OT salgılanması meydana gelmektedir.

Hiperozmotik uyarımlar da OT sekresyonunu indükler (164, 239), fakat bu tarz sekresyon pulsatil değil devamlı karakterdedir ve Na^+ atılımını regüle eder (169). Hiperozmolar uyarımdan sonra OT nöronlarının deşarj aktivitesinde artma meydana gelir (168).

3.2. Magnoselüler Nöron Fonksiyonlarını Etkileyen Nörotransmitterler

3.2.1. Noradrenalin

SON'a gelen inputlardan kimyasal olarak ilk tespit edileni beyin kökü katekolamin nöronlarıdır. Bu projeksiyon primer olarak noradrenerjiktir (292) ve ventrolateral medulla (VLM)'daki A1 hücreleriyle, NTS'un kaudal kısmındaki A2 hücrelerinden köken alır (74, 82, 264, 290, 322, 351). VP ve OT salgılanmasını kontrol eden kardiyovasküler ve diğer visseral afferent uyarılar, bu beyin kökü nükleusları yoluyla gönderilirler (272). A1 hücre grubundan kaynaklanan projeksiyon VP nöronlarına ulaşırken (16, 139, 264, 299), SON'a gelen A2 projeksiyonu yoğun olarak dorsalde yerleşmiş OT nöronlarına projekte olur (69, 75, 265). A1 hücre grubunun kimyasal ve elektriksel stimülasyonu, VP nöronlarını uyarır ve NH'den VP salgılanmasını harekete geçirir (24, 78, 81, 83, 207). A2 hücre grubunun uyarımı da OT nöronlarında aktivite artışına neden olmaktadır (188, 265). Subfornikal organ (215, 351) ve mediyan preoptik nükleus (291, 322) VP sekresyonu ve sıvı dengesinin düzenlenmesi için önemli ve yoğun inputlar sağlar. Stria terminalisin bed nükleusu, dorsomedial nükleus, anteroventral periventriküler nükleus, mediyan preoptik alan, rostral periventriküler alan ve lamina terminalisin organum vaskulozumu gibi önbeyin ve hipotalamusa ait alanlardan da inputlar gelmektedir (36, 122, 274, 275, 292). Broka'nın diagonal bandı (144) ve lateral septum (257) SO nöronlar üzerinde güçlü inhibitör rol oynarlar. Bununla beraber bu bölgeler sadece seyrek monosinaptik inputlar

gönderirler. *Locus coeruleus*'un A6 noradrenerjik lifleri daha yoğun olarak PVN'un parvoselüler hücrelerine ulaşmaktadır (290).

OT ve VP hücrelerinin fonksiyonları, noradrenerjik inputlarla bağlantılıdır (14, 145, 218, 301, 323). Noradrenerjik afferentler, MN aktivitesi üzerinde fonksiyonel olarak uyarıcı etkilere sahiptirler (81, 134, 264, 266, 358). NA'in SON nöronlarının ateşlenme oranını (firing rate) arttırdığı ve membran potansiyel depolarizasyonunu indüklediği hücre içi kayıtlarla gösterilmiştir (267, 359). Santral katekolaminlerdeki azalma, MN'in nörosekretuar fonksiyonlarında azalmayla sonuçlanmaktadır (213, 239). NA'in, SON ve PVN'daki magnoselüler hücre aktivitesi üzerindeki postsinaptik etkilerine aracılık eden reseptörler α_1 adreno reseptörlerdir (80, 267, 359). α_1 agonist fenilefrin OT salınımını artırırken, α_1 antagonist prazosin azaltıcı etki göstermektedir (269). Bunun yanında her iki nükleusta da α_2 (9) ve β (184) adreno reseptörlerin bulunduğu ve MN'in elektriksel aktiviteleri üzerinde uyarıcı etkilere sahip oldukları bildirilmiştir (80, 358). NA SON nöronlarında inhibitör postsinaptik akımların frekansını presinaptik α_2 reseptörler yoluyla ve muhtemelen gammaaminobütirikasit (GABA)'erjik nöronlara etki ederek azaltmaktadır (344). Yine NA, sitozolik Ca^{12} konsantrasyonunu arttırmak gibi postsinaptik mekanizmalarla inhibitör postsinaptik akımları inhibe edebilir (344). İn vitro tüm hücre kayıtlarında, NA uygulanması MN'da α_1 reseptör aracılı direk bir depolarizasyon ve eksitator postsinaptik potansiyellerde artma meydana getirirken (76), in vivo NA OT salınımını artırmaktadır (269).

NA'in hem lateral ventrikül hem de 3. ventrikül içine verilmesi, PVN'daki VP nöronlarının elektriksel aktivitesini inhibe ederken, OT nöronlarını aktive etmektedir (145). Laktasyon döneminde SON içine α_1 agonist fenilefrin infüzyonu plazma OT seviyesini yükseltmiştir (247).

Noradrenalin VP salınımını inhibe edebilir (130). Bu etki, α_2 oto reseptörler aracılığıyla (42, 153, 155, 358) veya VP hücreleri üzerindeki β adreno reseptörler yoluyla (80) oluşabilir.

3.2.2. Dopamin

SON'da DA immünoaktivitesi içeren terminallerin varlığı gösterilmiştir (49, 86). A14 ve A15 hücre guruplarının SON üzerinde önemli bir dopaminerjik innervasyon sağladıkları belirlenmiştir (336).

DA'in santral olarak verilmesi sonucu her ne kadar inhibe edici etkilerinden bahsedilse de (70), OT nöronlarındaki ateşlenme oranlarında ve OT salınımında artmalar kaydedilmiştir (219, 245). Bu gözlemler in vivo (15, 219) ve in vitro (204, 361) kaydedilmiş OT ve VP nöronlarındaki DA'in depolarize edici etkileriyle uyumludur. Nöronların uyarılmasındaki artışlar D₁ (204) ve D₂ (361) reseptörleri aracılığıyla oluşmakta ve her 2 reseptör aktivasyonu da hormon salınımını başlatabilmektedir (245, 327).

3.2.3. Glutamat

SON içindeki OT nöronları üzerinde bulunan terminal sinapsların yaklaşık %50'sinin glutamaterjik olduğu düşünülmektedir (330). SON'daki MN'da glutamatın eksitator etkilere sahip olduğu saptanmıştır (234). Parker ve Crowley laktasyon dönemindeki sıçanların OT nöronlarında glutamatın muhtemelen AMPA veya kainat reseptörleri yoluyla etki ettiğini göstermişlerdir (246). NMDA reseptör blokörleri OT nöronlarının ateşlenmesini in vivo etkilememelerine (234) ve tek başına NMDA uygulanması OT sekresyonunu değiştirmemesine rağmen, NMDA SON'daki AMPA/kainat reseptörlerinin ve glisin aktivasyonundan sonra OT sekresyonunu etkileyebilir (246). Sıçanlarda doğumun başlamasından birkaç dakika önce SON içindeki glutamat salınımı belirgin şekilde artmaktadır (125). Bu artış doğumun ilerlemesi esnasında devam etmediğinden, glutamatın doğumun başlamasında etkili bir eksitator amino asit olabileceği ileri sürülmüştür (125). Ayrıca laktasyondaki sıçanlarda NA ve glutamatın birlikte OT sekresyonu üzerinde presinaptik veya postsinaptik etkiyle stimüle edici fonksiyonlarının olabileceği de gösterilmiştir (247).

3.2.4. Gammaaminobutirikasit

Hipotalamustaki MN'da GABA_A reseptör ekspresyonu gözlenmiştir (14, 99, 100). SON ve PVN'daki sinapslarda GABA yoğun olarak bulunmaktadır (51, 87, 315, 329). İmmünogold teknikle yapılan ultrastrüktürel analizde SON'daki sinapsların % 30-40'ının GABA'erjik olduğu bulunmuştur (114). Virjin ve laktasyon dönemindeki sıçanlar karşılaştırıldığında, laktasyon dönemindekilerde SON'daki GABA'erjik sinapsların sayısında artma saptanmıştır (114). GABA'erjik hücre gövdeleri SON ve PVN'da belirgin olarak dedekte edilemediğinden (85, 114, 315), GABA'erjik inputlar nükleus içinden kaynaklanmamaktadır.

SON içine GABA_A reseptör agonisti *muscimol* uygulanması OT ve VP hücrelerinin elektriksel aktivitesini bariz şekilde inhibe etmiş, GABA_A antagonisti *bicucilline* eklenmesi ise bu inhibisyonu engellemiştir (199). *Bicucilline*'in tek başına verilmesi de OT hücrelerinde aktivite artışına yol açtığından, SON'a ulaşan GABA'erjik afferentlere ait tonik bir aktiviteden söz edilebilir (199). OT ve VP nöronlarında *muscimol*'un inhibe edici etkisi ve *bicucillin*'in bu etkiyi geri döndürücü özelliği in vitro olarak da gösterilmiştir (270).

3.2.5. Kolesistokinin

Kolesistokinin (CCK)'in sistemik olarak verilmesi VP salgılanmasını etkilemezken (230, 326), OT sekresyonunu doz bağımlı bir şekilde indüklemektedir (23, 337). CCK'in sistemik ve nükleus içi enjeksiyonu hem plazma hem de SON içindeki OT konsantrasyonunun artışına neden olur (230). Bu tarzdaki OT salgılanması, SO ve PVN'lardaki OT hücrelerinin aktivitesinde bir artışı takip eder (273). CCK geçici ve tekrarlanabilir etkilere sahip olduğundan, OT hücrelerinin tanınması için elektrofizyolojik çalışmalarda yoğun olarak kullanılmaktadır (173). CCK uygulanması, OT hücrelerinde 10 dakikalık sürede elektriksel aktivitede artışa neden olurken, VP hücreleri etkilenmemekte veya inhibisyon oluşmaktadır (173). CCK'in OT nöronları üzerindeki bu etkisine A2 hücre gurubundaki noradrenerjik projeksiyon aracılık etmektedir (188).

CCK kan-beyin bariyerine zayıf şekilde nüfuz eder ve OT hücrelerinin uyarımı tümüyle periferik etkilerin bir sonucudur. CCK verilmesinden sonra oluşan OT salınımı,

gastrik vagotomiyle (337) ve CCK-A reseptör antagonistlerinin periferik uygulanmasıyla (194, 212) bloke edilebilmektedir. Böylece sistemik CCK OT hücrelerini in vivo olarak gastrik vagal afferentler üzerindeki CCK-A reseptörlerinin aktivasyonu yoluyla uyarmaktadır.

CCK, fos ekspresyonunu NTS ve VLM da indüklemektedir (188). Subfornikal organ ve lamina terminalisin organum vaskulozumunda ise böyle bir etkisi yoktur. Beyin kökündeki bu fos ekspresyonu, CCK-A reseptör antagonistleriyle önlenir (188). NTS'un üzerini kaplayan area postrema'nın ayrılması, sistemik CCK ile indüklenmiş OT sekresyonunu azaltırken (57), üçüncü ventrikülün ön duvarının lezyonu bu etkiyi göstermemektedir (23). Bu durum, OT hücrelerine gelen gastrik vagal afferent uyarının taşınmasında önbeynin değil, beyin kökünün rol aldığını göstermektedir. Selektif noradrenerjik nörotoksin 5-ADMP (141)'nin intraserebroventriküler (ICV) olarak verilmesinden sonraki santral noradrenerjik nöronların ayrılması (ablation), CCK'le indüklenmiş OT sekresyonunu engellemektedir (239). Yine PVN'da CCK'le indüklenmiş OT hücrelerinin uyarımı α_1 antagonist fentolaminin iyontoforetik uygulanmasıyla önlenir (326). CCK'in sistemik enjeksiyonu SON içindeki OT'den zengin dorsal bölgede ve PVN'da artmış bir NA salınımıyla sonuçlanır (152). Katekolaminerjik nörotoksin 6-hidroksi dopaminle ön muamele edilmiş sıçanlarda CCK uygulanması OT sekresyonundaki artışı engellemektedir (46).

CCK'in sistemik enjeksiyonu birçok noradrenerjik nöron içeren NTS ve VLM'da geçici bir fos ekspresyonu ile sonuçlanır. Fos proteini değerlendirildiğinde SON'a projekte olan A2 gurubu nöronlarının CCK ile aktive olduğu gözlenirken, A1 gurubu nöronları aktive olmamaktadır (239).

SON ve PVN'da CCK bağlayan alanların varlığı gösterilmiştir (77). CCK, SON'daki OT ve VP hücrelerini in vitro olarak depolarize eder (142), izole nörohipofizeal sinir uçlarından OT ve VP salınımını indükler (27). SON'a direkt enjeksiyonu lokal ve sistemik OT sekresyonunun yanısıra (230), MN'da fos ekspresyonu meydana getirir (198). CCK, bazı MN'da OT'le birlikte lokalize olduğundan (175), magnöselüler nükleuslarda otokrin bir role sahip olabileceği ileri sürülmüştür (169).

3.2.6. Nitrik Oksit

MN yüksek düzeyde nitrik oksit sentetaz eksprese ederler (121, 148). Nitrik oksit, MN'in elektriksel aktivitesinin önemli bir otomodülatörü olabilir (186). Ayrıca afferent sinir uçlarındaki presinaptik etkilerle afferent transmisyonu etkileyebilirler (71). Nitrik oksit donörü *S-nitroso-N-acetylpenicillamine*'in uygulanması, SON'dan kaydedilen spontan inhibitör postsinaptik akımların frekansını artırırken eksitator postsinaptik akımları etkilememektedir (242). Bunların yanında nitrik oksit, SON nöronlarında cGMP aracılı bir eksitator rol oynamaktadır (363) ki bu durum nitrik oksitin presinaptik etkilerine ilaveten supraoptik nöronlar üzerinde direkt etkilere sahip olabileceğini göstermektedir. Srisawat ve arkadaşları nitrik oksit donörü sodyum nitroprussidin SON içine lokal uygulanmasının hem OT hem de VP hücrelerinin elektriksel aktivitesini azalttığını, ICV yolla verilmesinin de hiperozmotik uyarımdan sonraki OT salgılanmasını inhibe ettiğini göstermişlerdir (307). Aynı çalışmada nitrik oksit sentetaz inhibitörü L-NNA'nın SON'da güçlü hipertonic uyarımdan sonraki fos ekspresyonunu arttırdığı da belirlenmiştir.

3.2.7. Histamin

Gebeliğin son döneminde dorsomedial tuberomamiller nükleusun histamin içeren hücreleri yüksek bir histidin dekarboksilaz mRNA ekspresyonu sergilerler (195) ki bu durum hücrelerdeki aktivite artışını ifade eder. Bu hücrelerin bazıları direkt olarak MN'a projekte olurlar. Histamin VP nöronlarını H₁ reseptörleri yoluyla depolarize ederken (178), OT nöronlarının elektriksel aktivitesi üzerindeki etkisi H₂ reseptörler aracılığıyla inhibitördür (362). Bununla birlikte histaminin santral olarak verilmesi, MN'da fos ekspresyonunu stimüle eder ve SON'daki OT mRNA ekspresyonunu belirgin şekilde artırır (157, 158). Böylece OT nöronlarına gelen histaminerjik projeksiyon, gebelikte OT sentezini arttırıcı ve salınımı azaltıcı yönde ikili etkiye sahiptir.

Bu nörotransmitter maddelere ilaveten, nöropeptit Y (97, 292), galanin (176) ve *substance P* (22) gibi bazı peptitler magnozölüler hücrelere projekte olmakta ve bu hücrelerin fonksiyonlarını etkileyebilmektedirler (64, 79, 244).

3.3. Opioid Peptitler ve Hipotalamo-Nörohipofizeal Sistem

Opioid peptitler, nalokson veya diğer opioid antagonistlerle reseptörleri bloke edilebilen maddelerdir. Algı ve zararlı uyarılara karşı yanıtta önemli bir grup oldukları düşünülmüşse de, fonksiyonları ve birçok sistemle etkileşimleri oldukça kompleksdir. Opioid peptitler, analjezi, stres, hafıza, immün yanıt, beslenme, kan basıncının düzenlenmesi ve endokrin düzenleme gibi birçok olayda önemli rol oynarlar. Opioid reseptör tipleri ve bunlara bağlanabilen endojen opioidler ve sentetik opiyatlar Tablo 3.1'de gösterilmiştir.

Reseptör tipi	Endojen Agonistler	Agonist prokürsörleri	Sentetik agonistler	Sentetik Antagonistler
μ reseptör	Endomorphin-1 Endomorphin-2	Bilinmiyor	DAGO DAMGO Morphine	Naloxone CTOP Clocinnamox
	β -endorphin	Pro-opiomelanocortin		
δ reseptör	Met ⁵ -enkephalin Leu ⁵ -enkephelin	Pro-enkephelin A	DPDPE	Naltrindole ICI174864
κ reseptör	Dynorphin A ₁₋₈ Dynorphin A ₁₋₁₇ Dynorphin B α -nocoendorphin β -nocoendorphin	Pro-dynorphin	U50,488H U69,593 Dynorphin A ₁₋₁₃	Nor-binaltorphimine
	Met ⁵ -enkephelin-Arg-Phe Met ⁵ -enkephalin-Arg-Gly-Leu	Pro-enkephalin A		

Tablo 3.1. Opioid reseptörlerin sınıflandırılması ve farmakolojisi (47).

Genellikle, opioid peptitlerin bağlandıkları tümü klonlanmış olan (62, 96, 154, 210, 214, 317) μ , κ ve δ olmak üzere 3 reseptör tipinin olduğu kabul edilmektedir (61, 249). Bu

reseptörler 7 transmembran alanlı (domain) G-protein bağlantılı reseptör ailesinin üyesidirler ve yaklaşık 400 aminoasitten oluşurlar. Farmakolojik olarak λ, μ, κ gibi diğer bazı opioid reseptörlerin varlığı ifade edilse de, bunların gen şifreleri yeterince karakterize edilmemiştir ve varsayılan bu reseptörler henüz klonlanmamıştır (47).

Üç tür opioid aile bulunmaktadır: β -endorfin içeren proopiomelanokortin (POMC) ailesi, enkefalinler ve dinorfin. Bunların her biri yaklaşık 250 aminoasitlik bir prokürsöre sahiptir. Bu prokürsörler POMC, pro-enkefalin ve pro-dinorfindir. Son peptit ürünleri, beyinde yaygın olarak bulunan genel bir genden eksprese edilir. 1975'de met⁵-enkefalin ve leu⁵-enkefalin izole edilmiş ve güçlü opioid agonist etkiye sahip oldukları gösterilmiştir (132). Met⁵-enkefalin ve leu⁵-enkefalin pro-enkefalin A'dan (235), β -endorfin POMC'den (226), dinorfinler (A_{1-8,1-17}) pro-dinorfin (=pro-enkefalin B)'den (149) derive olurlar.

3.3.1. Opioidlerin Etki Mekanizmaları

Opioid reseptörler efektör mekanizmalarıyla yalnızca G_{i/o} proteinleri vasıtasıyla bağlanmaktadır (63, 325). Başlangıçta μ ve δ reseptörlerin inhibitör etkilerini içe doğru yönlendirici (inwardly rectifying) K⁺ iletkenliğinin aktivasyonu ile sergiledikleri, κ reseptörlerin ise voltaj bağımlı Ca⁺² iletkenliğinin inhibisyonu yoluyla etki ettiği düşünülmüştür. Fakat zamanla, reseptörlerin herbiri tarafından kullanılan efektör mekanizmaların hücre tipine spesifik olduğu ortaya çıkmıştır. Çünkü, μ reseptör aktivasyonu da voltaj aktiveli Ca⁺² iletkenliğini inhibe edebilmekte ve κ reseptör aktivasyonu aynı zamanda içe doğru yönlendirici K⁺ iletkenliğini aktive edebilmektedir (117). Opioid efektör mekanizmalar iyon kanallarının aktivasyon/inhibisyonuna ilaveten, fosfolipaz C (302) ve mitojen aktiveli protein kinaz (108) aktivasyonunun yanısıra, adenil siklazın inhibisyonu (63) gibi ikinci haberci sistemleri aracılı etkiler içermektedir.

3.3.1.1. Nörohipofizeal Düzeyde Opioid Etkiler

3.3.1.1.1. Nörohipofizdeki Endojen Opioidler

Her ne kadar bazı μ reseptör bağlayan alanlar olsa da (52, 310) NH'de opioid reseptörlerin yoğun olarak κ alt tipi bulunmaktadır (52, 113, 180, 200, 300, 311, 368). κ reseptörler OT ve VP sinir uçlarının yanısıra pitüisitler üzerinde de saptanmıştır (126).

Hipofiz arka lobu sadece OT ve VP hormonlarını değil, aynı zamanda enkefalin (112, 161, 236, 280, 335), dinorfin (115, 116, 131, 227) ve α -neo-endorfin (137, 236, 350) gibi opioid peptitleri de içermektedir. Pro-dinorfin geninden derive olan dinorfin A (1-8) κ reseptörlere etki edebilen bir opioid peptittir (67). Dinorfin A (1-8) magnozülüler VP nöronları içinde sentezlenir (298, 348) ve nöral lopta VP ile birlikte salgılanır (353). Pro-dinorfin, OT nöronlarında da eksprese edilmektedir (209). Pro-enkefalin A geninden derive olan met⁵-enkefalin, nörohipofizeal sinir uçlarında OT ile birlikte (1, 203) veya gliyal hücreler üzerinde (335) lokalize olmuştur. Met⁵-enkefalin, bir κ reseptör ligandı değildir. Bununla birlikte, yine pro-enkefalin A'dan derive olan diğer iki enkefalin peptidi (Met-enkefalin-Arg-Phe ve Met-enkefalin-Arg-Gly-Leu)'nin nöral lobda κ reseptörlere bağlanarak inhibitör etkiye sahip oldukları tespit edilmiştir (243). Ayrıca, pitüisitler üzerinde pro-enkefalin A mRNA'sının bulunması da, nöral lopta lokal bir opioid sentezinin olabileceğini göstermektedir (293). Böylece arka hipofizde OT sekresyonu üzerinde etki göstermesi muhtemel endojen nörohipofizeal opioidlerin pro-dinorfin veya pro-enkefalin A derive peptitleri olduğu söylenebilir (167).

3.3.1.1.2. Opiyatların Gebelik ve Diğer Süreçlerde Nörohipofizdeki Etkileri

Gebe olmayan sıçan NH'inde elektriksel uyarımla indüklenmiş OT salgılanması üzerinde μ agonist DAGO ve λ agonist DPDPE etki göstermemiş (369), κ agonist *trans(±)-3,4-dichloro-N-methyl-N-(2-[1-pyrrolidinyl]cyclohexyl)benzene-acetamide* (U50,488H) ise in vitro ortamda önemli ölçüde inhibe etmiştir (368, 369). Yine in vitro şartlarda OT sekresyonunu κ agonist ajanlar dinorfin A₁₋₈ (26, 98), dinorfin A₁₋₁₃ (368) ve dinorfin A₁₋₁₇ (26) azaltmış, akabinde ortama eklenen genel opioid antagonist bir ajan olan nalokson ise belirgin şekilde arttırmıştır (19, 26, 343, 369). Virjin sıçanlarda in vitro ortamdaki bazal OT salınımı üzerinde direkt nalokson uygulanması hormon sekresyonu yönünden herhangi bir etkiye neden olmamıştır (368).

Clarke ve arkadaşlarının farklı bulgularına rağmen (65), spesifik μ reseptör etkili morfin gibi agonistlerin nöral lop üzerinde önemli etkileri yoktur (260, 281).

İzole nörohipofizeal terminallerde κ agonist ajanlar dinorfin A, U50,488H ve U69,593 uygulanması, yüksek voltajla aktive olan L, N ve P/Q kanallarından Ca²⁺

akımlarını inhibe ederken, μ agonist DAMGO ve δ agonist DPDPE bu etkiyi göstermemiştir (281).

Gebeliğin son dönemindeki sıçanlarda izole NH'in elektriksel uyarımıyla salınan OT miktarı, gebe olmayan sıçanlardakinden daha fazladır ki bu da azalmış opioid etkiyi göstermektedir (92). Nalokson, hem gebe olmayan hem de gebeliğin son dönemindeki sıçanlarda elektriksel olarak stimüle edilmiş OT salınımını arttırmıştır (92). Fakat nalokson uygulanmasından sonraki OT salınımı, gebeliğin 16. ve 21. günündeki sıçanlarda gebe olmayanlarla karşılaştırılınca önemli derecede düşüktür. Bu bilgiler gebelik sırasında arka hipofizdeki OT sekresyonu üzerinde gebe olmayan sıçanlardakinden daha zayıf bir opioid inhibisyon olduğunu ortaya koymaktadır (90). U50,488H gebeliğin son dönemindeki ve gebe olmayan sıçanlarda nöral löbdaki OT salınımını güçlü bir şekilde azaltmaktadır (92). U50,488H'nin bu etkisi, gebe olmayan sıçanlarda daha belirgindir. Böylece, doğuma birkaç gün kala OT sinir uçlarının κ opioid etkiye duyarsızlaştığı ortadadır. Gebeliğin son dönemindeki sıçanların NH'inde, κ reseptörlerin yoğunluğu azalmaktadır (311). Gebe sıçan NH'indeki κ reseptör bağlanması azalması, gözlenen duyarsızlaşma için bir mekanizma ortaya koyabilir (90).

3.3.1.2. Gebelik ve Diğer Süreçlerde Magnoselüler Nöronlardaki Opioid Etkiler

μ agonist bir opiyat olan morfin ICV olarak verildiğinde başlamış olan doğumun ilerlemesini geciktirmekte (21, 192, 282), nalokson ise bu etkiyi ortadan kaldırmaktadır (21, 282). Benzer şekilde morfin ve U50488H'nin sistemik olarak enjeksiyonu da doğumu yavaşlatmakta, nalokson ve spesifik bir κ antagonist olan nor-binaltorphimine (NRB, 255, 256) ise bu etkiyi geri döndürmektedir (91). Doğumun gecikmesindeki bu duruma, plazma OT sekresyonundaki azalma iştirak etmektedir (91, 282). μ agonist etkileri olduğu bilinen petidinin deri altı yolla uygulanması, naloksonla geri dönüşümlü bir tarzda doğumu yavaşlatmaktadır (285).

3.3.1.2.1. Oksitosin Nöronlarına Gelen Santral Endojen Opioid İnteraksiyonları

SON ve PVN'da hem κ hem de μ opioid reseptörler bulunmaktadır (202, 310, 311). OT hücrelerine etki eden endojen opioidler, birkaç farklı kaynaktan köken alırlar. Pro-

enkefalin peptitleri, NTS'tan derivate olan fibrillerdeki somatostatin veya inhibin β ile birlikte lokalize olmuşlardır (288). Bu peptitler VP'den daha çok selektif olarak OT hücrelerini innerve ederler (289). Aynı zamanda enkefalinler, bir kısmı MN'a projekte olan VLM ve NTS'daki adrenerjik ve noradrenerjik nöronlarda (60) ve minör bir innervasyon sağlayan *locus coeruleus* nöronlarında da bulunmaktadır (208). *Zona incerta* ve ventromediyal nükleus gibi bazı alanlar proenkefalin A geni eksprese ederler (120). Diğer enkefalin içeren hücreler PVN'a komşu alanlarda yer almaktadırlar.

NTS'da POMC nöronlarının varlığı saptanmıştır (41). Ayrıca ARN'da bulunan POMC hücrelerinden çıkan lifler, magnoselüler veya perinükleer bölgeyi innerve ederler (159, 290). ARN'tan SON'a -tamamen opioid aracılı olmayan- fonksiyonel bir inhibitör projeksiyon olduğu elektrofizyolojik olarak gösterilmiştir (174).

3.3.1.2.2. Opioidlerin Oksitosin Hücreleri Üzerindeki Elektrofizyolojik Etkileri

μ ve κ agonistler gebe olmayan sıçanlarda OT nöronlarının elektriksel aktivitesinde azalmaya neden olurlar (262, 263, 341). SON içine naloksonun direk verilmesi morfinin sistemik enjeksiyonuyla meydana gelen OT hücrelerindeki hareketlenme oranının (firing rate) inhibisyonunu ortadan kaldırmıştır (197). Bu durum oluşan inhibisyonun SON içindeki reseptörler aracılığıyla ortaya çıktığını göstermektedir. Önceleri hücre içi kayıtlarda morfinin, membran potansiyelini ve input rezistansını değiştirmeksizin, magnoselüler nörosekretuar hücrelerin hareketlenme oranını inhibe ettiği gözlenmişken (238), son zamanlarda μ reseptör aktivasyonunun, izole supraoptik nöronlarda N ve P tipi Ca^{2+} akımlarını azalttığı belirlenmiştir (306). μ agonistler aynı zamanda supraoptik ve paraventriküler MN'da K^{+} iletkenliğini arttırmaktadır (225, 357). Böylece μ reseptör aktivasyonunun, magnoselüler hücre aktivitesini hem K^{+} iletkenliğinin aktive edilmesi hem de Ca^{2+} akımlarının inhibisyonu yoluyla baskıladığı ifade dileyebilir.

κ opioidlerin magnoselüler hücrelerin membran özellikleri üzerindeki etki mekanizmalarıyla ilgili bilgiler birbiriyle tamamen uyumlu değildir. OT hücrelerinin ateşlenme oranındaki κ opioid inhibisyon, SON içine nalokson verilmesiyle geri dönmektedir (197) ki bu durum magnoselüler hücre aktivitesindeki κ opioid inhibisyonun primer olarak nükleus içi reseptörler aracılığıyla meydana geldiğini ortaya koymaktadır. Bu

bulgu, kesit preparatlarından elde edilen kayıtlarda da κ opioidlerin SON hücrelerindeki ateşlenme oranını inhibe etmeleriyle uyumludur (135). κ agonistler supraoptik hücrelerde postsinaptik potansiyelleri ve aksiyon potansiyelin Ca^{+2} komponentlerini azaltmaktadır (136). Yine SON kültüründen elde edilen hücrelerde κ opioidlerin, voltaj aktiveli Ca^{+2} akımlarını inhibe ettikleri ileri sürülmüşse de (205) yakın zamanda κ ve δ opioid reseptör aktivasyonunun izole SON nöronlarında N ve P tipi Ca^{+2} akımlarını etkilemedikleri ortaya konmuştur (306). Ayrıca, U50488H supraoptik OT hücrelerinde K^+ iletkenliğini (225) ve VP nöronlarında depolarize edici art potansiyelleri belirgin şekilde (43) azaltmaktadır.

3.3.1.2.3. Nükleus İçi Oksitosin Sekresyonunun Opiod İnhibisyonu

SON içindeki OT salınımı, OT nöronlarının otheregülasyonunda önemli bir rol oynadığı ileri sürülmüştür (196, 216, 220). Bu sekresyon esas olarak dendritlerde meydana gelmektedir (196, 259). İntranükleer hormon salınımı doğum ve emzirme gibi OT nöronlarının aktifleşme oranlarının arttığı durumlarda saptanmıştır (217, 231, 232). SON içine OT antagonisti verilmesi, doğumun ilerlemesini geciktirdiğinden (228, 287) ve laktasyonda nükleus içi ve sistemik OT sekresyonunu azalttığından (229), intranükleer OT salgılanması doğumda ve emzirme döneminde etkin bir rol oynar. Morfin bağımlılığından sonraki naloksonla hızlandırılan morfin çekilmesi sonucu SON içinde OT salınımı artmaktadır (286). Gebe olmayan ve gebeliğin 10,18 ve 21. günündeki sıçanlarda SON'daki OT salgılanması aynı düzeylerde (93). Nalokson bu salınımı gebe olmayan ve 10 günlük gebe sıçanlarda etkilemezken, 21 günlük gebelerde arttırmış, NRB ise 21 günlük gebe sıçanlarda herhangi bir değişikliğe neden olmamıştır (93).

3.3.1.2.4. C-Fos Protein Sentezinin İnhibisyonu

MN'da hızlı oluşan ilk (immediate early) gen *c-fos*'un ürünü olan fos proteinin, OT gen regülasyonunda rol oynadığı ileri sürülmüştür (138). SON ve PVN'lardaki nöronal aktivasyon, *c-fos* mRNA ekspresyonunun indüksiyonuyla meydana gelir (118, 129) ve bu durum OT hücrelerinde protein ürünü fosun senteziyle sonuçlanır (338). MN'ın transsinaptik stimülasyonu *c-fos* genini aktive etmektedir (193). MN'da oluşan aksiyon potansiyeller ve takibeden Ca^{+2} girişi, *c-fos* ekspresyonunun indüksiyonunda önemli rol oynar (171). Normal spontan doğum sırasında SON ve beyin kökü nöronlarında fos

eksprese edilir (7, 8, 181, 182, 190, 191, 192). Akut hiperozmotik stimülasyon veya CCK'in sistemik olarak uygulanmasıyla sağlanan OT hücrelerinin aktifleşme oranlarındaki artış, c-fos mRNA'sında hızlı bir artışa yol açar (118). CCK verilmesinden sonra SON, A1 ve A2 nöron bölgelerindeki fos immünoreaktif hücre sayılarında önemli artmalar gözlenmiş, morfin ön muamelesinden sonraki CCK uygulanması ise bu artışlara yol açmamıştır (240). Nalokson enjeksiyonu gebe olmayan ve 16 günlük gebe sıçanlarda fos sentezini etkilememiş, fakat 21 günlük gebe sıçanlarda ise belirgin şekilde arttırmıştır (93). NRB gebe olmayan ve 21 günlük gebe sıçanlarda SON'daki fos pozitif nöron sayısında değişiklik oluşturmamıştır (93). Böylece SON OT nöronları üzerindeki santral endojen opioid inhibisyonunun, gebeliğin 16. ile 21. günleri arasında ortaya çıktığı ifade edilebilir. NRB'in bütün gruplarda SON içindeki fos ekspresyonunu etkilememesi, endojen opioidlerin fos ekspresyonu üzerindeki inhibitör etkilerini κ reseptörlerle değil, μ reseptörler aracılığıyla gösterdiğini ortaya koymaktadır (90).

3.3.1.2.5. Hipotalamustaki Presinaptik Uçlardan Noradrenalin Salıverilmesinin Opioidlerce Baskılanması

OT nöronlarına gelen önemli bir uyarıcı input beyin kökü noradrenerjik sisteminden kaynaklanmaktadır (265). NTS'daki A2 nöronlarının bir bölümü SON'a projekte olur. Bu nöronlar normal gebelik esnasında ve CCK verilmesinden sonra aktive olmaktadır (193). CCK NTS'a ve A2 nöronlarına gastrik vagal yolla ulaşır ve OT nöronlarını uyarır (239). Özellikle vagal afferent uçları aktive eden CCK'in sistemik olarak uygulanması, OT hücrelerinin daha yoğun olduğu dorsal SON'da NA salgılanmasıyla ve dolaşımdaki OT seviyesinin artışıyla sonuçlanır (152, 240). Morfin SON'daki NA salınımını bazal şartlarda etkilemezken, CCK'le indüklenmiş salınımı bariz şekilde engellemektedir (240). Nalokson uygulanmasından sonra intranükleer NA seviyesi geçici olarak yükselmiştir. Morfinin SON'daki NA salgılanması üzerindeki bu inhibitör etkisi nalokson eklenmesiyle geri döndürülebilmektedir (240).

3.3.1.2.6. Oksitosin Nöronlarının Morfin Bağımlılığı ve Toleransı

Morfinin ICV olarak uygulanması başlangıçta OT hücrelerini güçlü şekilde inhibe ederken, sonraki 5 gün sürede uygulamanın devam etmesiyle OT hücreleri morfinin inhibitör etkilerine daha az duyarlı hale gelir ve tolerans gelişerek OT nöronlarının

elektriksel aktivitesi ve OT sekresyonu normal değerlere yaklaşır (20, 260, 271, 284). Morfinin devamlı infüzyonu sonucu OT sisteminde morfin bağımlılığı oluşur ve morfinin kesilerek opioid antagonistlerin verilmesi, OT hücrelerinin hipereksitasyonuna ve OT'in hipersekresyonuna yol açar (20, 45, 172, 197, 224, 271). Aynı şartlarda santral nalokson infüzyonu ise SON içinde NA (224) ve OT (286) salınımını da arttırmaktadır. Yine benzer şekilde naloksonla hızlandırılan (precipitate) morfin çekilmesi hipereksitasyonu, SON, PVN ve NTS'da fos ekspresyonunda artmaya neden olur (143, 224). G protein inhibitörü pertusis toksininin SON içine enjeksiyonu, morfin çekilmesiyle indüklenen fos ekspresyonunu azaltmaktadır (44).

Morfin uygulanan sıçanların SON'undaki μ opioid bağlayan alanların yoğunluğunda azalma görülürken, κ opioid bağlayan alanların dansitesinde değişme olmamaktadır (310). Bu durum, morfin toleransının, μ reseptör davnregülasyonu sonucu meydana gelebileceğini düşündürmektedir. Birçok santral nöron μ reseptör eksprese etse de (201), bağımlılık morfine duyarlı nöronların genel özelliği değildir (237).

3.3.2. Gebelikte Hipotalamik Endojen Opioidlerin ve Steroit Hormonlarının Seyri

Gebelik esnasında OT nöronlarının inhibisyonundan sorumlu olan endojen opioidler, MN'da hormonlarla beraber lokalize olan dinorfin, met-enkefalin ve diğer enkefalinler ile MN'la bağlantılı hipotalamik alanlardaki β endorfin gibi opioidlerdir (90). β endorfin ARN'tan, met-enkefalin parvoselüler PVN'tan kaynaklanmaktadır. Gebelikte hipotalamustaki nöronlarda pro-dinorfin (92) ve pro-enkefalin A (94) mRNA düzeyleri değişmemektedir. Yine gebelik sırasında hipotalamus (345) ve plazma (39) β endorfin seviyesinde bir artış tespit edilmiştir. Gebeliğin sonuna doğru daha fazla ARN nöronu POMC geni eksprese etmekte, fakat SON ve PVN'ta pro-dinorfin ve pro-enkefalin A ekspresyonunda değişme olmamaktadır (92). Gebeliğin son döneminde κ reseptör etkili opioidlerin sentezinde apregülasyon veya MN'daki bu genlerin opioid ürünlerinin OT nöronlarının inhibisyonunda rol oynaması pek olası görülmemektedir (90).

Plazma konsantrasyonları gebelikte artan seks steroid hormonları olan östrojen ve progesteron, hipotalamustaki hem OT hem de β endorfin nöronlarını etkilemektedir.

Plazma progesteron düzeyi doğumdan önce dramatik bir şekilde azalır (38, 221, 252). Östrojen seviyesi ise gebelik boyunca paralel seyrederken doğuma yakın hafif bir artma eğilimindedir (296). Progesteron OT sentez ve sekresyonunu inhibe ederken (40, 68, 316), östrojen stimüle eder (253, 295). Ayrıca progesteron, gebelikte hipotalamustaki β endorfin ve POMC mRNA miktarını (39, 356) ve μ reseptör bağlanmasını (119) artırırken, östrojen zıt etkilere sebep olur (279, 321). β endorfin üzerindeki bu steroid etkiler, östrojen ve progesteron reseptörlerine sahip olan hipotalamus ve ARN'daki POMC nöronları üzerine direkt etkiyle oluşabilir (106, 183). Fakat OT hücrelerinde bu reseptörler yoktur (54, 106). Ovaryumları çıkarılmış dişi sıçanlarda östrojen uygulanması hipotalamik β endorfin (105, 346, 347) ve POMC mRNA (321) miktarını azaltmaktadır. Yine östrojen, hipotalamustaki POMC gen ekspresyonunu inhibe etmektedir (318, 354). Progesteron, OT nöron aktivitesini inhibe eden β endorfin sekresyonunu indükleyerek, indirek bir şekilde OT nöronlarını etkileyebilir (90). Ovariye tomize gebe sıçanlarda progesteron gebeliğin son 3 gününde OT nöronları üzerindeki opioid inhibisyonu en azından kısmi bir şekilde muhafaza eder (349). Böylece, gebeliğin son dönemindeki sıçanlara progesteron verilince ortaya çıkan doğumun başlamasındaki gecikme, sadece uterus üzerindeki inhibitör yolla değil, aynı zamanda hipotalamustaki opioid mekanizmalar üzerindeki etkilerle meydana gelebilir (8).

Amaç: Bu bilgilerin ışığında, gebeliğin son döneminde ve doğum sırasında kan östrojen, progesteron değerleriyle oksitosin ve β endorfin düzeylerinin dedekte edilmesi, steroid hormon- β endorfin-oksitosin etkileşimlerinin anlaşılmasına katkı sağlayacaktır. Bu amaçla gebeliğin 20. ve 21. günüyle doğum anındaki sıçanların hormon ve opioid düzeylerinin saptanması hedeflenmiştir. Gebeliğin 20. gününde, μ ve κ agonist ve antagonist opiyatların santral olarak verilerek, kan oksitosin düzeyi ile SON, PVN ve NH'de NA konsantrasyonları arasındaki ilişkinin araştırılması, dolayısıyla opioidlerin OT salgılanması üzerindeki presinaptik noradrenerjik nörotransmisyon aracılı olası etkilerinin ortaya çıkarılması amaçlanmıştır.

4. GEREÇ VE YÖNTEM

4.1. Deney Hayvanlarının Bakım ve Beslenmeleri

Çalışmada F.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyomedikal Araştırmalar Ünitesi'nden sağlanan, 200-220 gr ağırlığında 61 adet Wistar cinsi intak dişi sıçan kullanıldı.

Sıçanlar 12 saat karanlık, 12 saat aydınlık ve standart oda sıcaklığı (21 ± 1 °C) sağlanan ortamda, her gün temizlenen plastik kafeslerde, dörderli gruplar halinde tutuldu. Hayvanlar çeşme suyuyla ve Elazığ Yem Fabrikası'nda hazırlanan pelet halindeki özel sıçan yemleriyle beslendi (Tablo 2.1).

Kuru madde (%)	93,69
Ham Protein (%)	34,15
Ham Yağ (%)	3,00
Metabolik Enerji (Kcal/kg)	2095
Kalsiyum (%)	3,36
Sodyum (%)	1,09
Magnezyum (%)	0,50
Çinko (mg/kg)	286,80
Demir (mg/kg)	920,00
Bakır (mg/kg)	29,33
Ham Maddeler	Balık unu, mısır, buğday, ayçiçeği küspesi, çavdar ve mineral maddeler

Tablo 2.1: Sıçan yeminin bileşimi.

4.2. Deney Protokolü

4.2.1. Deney Grupları

Deneyler 2 ayrı protokol şeklinde uygulandı. İlk düzenekte hayvanlar 3 guruba ayrıldı:

- A- Gebeliğin 20. günü dekapite edilen grup, (n=7).
- B- Gebeliğin 21. günü dekapite edilen grup, (n=7).
- C- Doğum sırasında dekapite edilen grup, (n=9).

Bu ilk düzenekteki gruplarda serum östrojen, progesteron ve oksitosin ile plazma β endorfin tayinleri yapıldı. Doğum grubunun dekapitasyonu, 2. veya 3. yavrunun doğmasından hemen sonra gerçekleştirildi. Bu gruptaki sıçanların 5 tanesi 21. gün, 4 tanesi de 22. gün doğum yaptı.

İkinci protokol ise 5 grup halinde düzenlendi.

- 1- Kontrol grubu (n=8): Bu gruptaki sıçanlara 10 μ l izotonik NaCl (SF) uygulandı.
- 2- μ agonist grubu (n=8): Morfin hidroklorür 50 μ g/kg/10 μ l SF dozunda uygulandı.
- 3- μ antagonist grubu (n=8): Spesifik μ antagonist bir opiyat olan (55, 66) Cloccinnox mesylate, (Tocris, Ballwin, ABD) 50 μ g/kg/10 μ l SF dozunda uygulandı.
- 4- κ agonist grubu (n=6): U50,488H (Upjohn Co., Kalamazo, ABD) 50 μ g/kg/10 μ l SF dozunda uygulandı.
- 5- κ antagonist grubu (n=8): Nor-Binaltorphimine (Sigma, St. Louis, ABD) 50 μ g/kg/10 μ l SF dozunda uygulandı.

Bu gruplarda serum oksitosin seviyeleri, hipotalamik SON ve PVN ile NH'deki NA ve bir NA metaboliti olan dyhidroxyphenylglycol (DHPG) düzeyleri tayin edildi.

4.2.2. Vajinal Simir ve Gebeliğin Sağlanması

Hayvanlar günlük olarak sabah 08.⁰⁰-09.⁰⁰ saatleri arasında vajinal simirle takip edildi. Proöstrus evresindekiler akşam yetişkin birer erkek sıçanla aynı kafeste tutuldu. Ertesi gün sabah vajinal simirde sperm görülenlerin, gebeliğin sıfırıncı gününde oldukları kabul edildi (Gebelik süresi 21 gün). Sıçanlar dekapitasyon işlemi yapılana kadar bireysel kafeslerde izlendi.

4.2.3. İntraserebroventriküler İnfüzyon

ICV infüzyonlar bütün gruplara gebeliğin 20. günü sabah saat 08.⁰⁰-10.⁰⁰ arasında yapıldı. Hayvanlara anestezik olarak, 0,5 ml SF'de çözdürülen chloralhidrat (Botafarma Lab, Ankara) 550 mg/kg dozunda periton içi verildi. Tam anestezi sağlandıktan sonra hayvanların kafalarının üst bölgesi tüylerden arındırıldı. İyotlu solusyonla temizlendikten sonra frontal ve oksipital bölgeler arası, bistüri yardımıyla kafa derisi kesilerek orta hattın düz bir şekilde kemik dokuya kadar açıldı. Sıçanlar daha sonra tutucular ve kulak barları yardımıyla, kafanın en küçük hareketi bile engellenecek şekilde sterotaksik alete (Stoelting Co, Illinois, ABD) yerleştirildi. Hayvanların kafa bölgelerinin fronto-oksipital doğruyu boyunca yere tam olarak paralel bir şekilde lokalize olmaları sağlandı.

10 µl'lik bir mikroenjektör, vertikal olarak sterotaksik alete implante edildi. Lateral, antero-posterior ve vertikal olarak hareketi sağlayan vidalar oynatılarak enjektörün ucu kafanın bregma noktasına temas ettirildi. Bu noktadaki üç boyutlu koordinatlar saptandı. Sıçan beyin atlasından (251) elde edilen 1.45 mm lateral ve 0.92 mm antero-posterior koordinatlarla, sağ lateral ventrikül izdüşümü noktası sağ temporal kemik üzerinde işaretlendi. Bir dişiçi turu yardımıyla bu noktadaki kemik doku son derece hassas bir şekilde beyin dokusuna temas etmeden delindi. Mikroenjektör içine infüze edilecek çözelti alınarak bu noktada mikroenjektör beyin dokusuna temas edinceye kadar dikey yönde ilerletildi. Yine atladaki koordinatlar kullanılarak 3.6 mm vertikal olarak beyin dokusu içine girildi ve sağ lateral ventriküle ulaşıldı. 2 dk.'lık sürede toplam 10 µl infüzyon yapılarak mikroenjektör yavaşça geri çekildi. İnfüzyonun bitmesinden 20 dk sonra hayvanlar dekapite edildi.

4.2.4. Kan ve Beyin Dokularının Eldé Edilmesi

Hayvanların dekapitasyonunu takiben, kan örnekleri 2 ml.lik plastik ependorf tüplere alındı ve +4 °C'de 15 dk pıhtılaşmaları için bekletildi. Santrifüj cihazına (Hettich, Tuttlingen, Almanya) konan örnekler +4 °C'de 15 dk süreyle 3000 devir/dk'de santrifüj edildi. β endorfin tayini için 1 ml kan da heparinize ependorf tüpe kondu ve aynı şartlarda santrifüjle ayrıştırıldı. Elde edilen serum ve plazma numuneleri kuru buz içine yerleştirilmiş 1.5 ml lik plastik ependorf tüplere konarak hemen donduruldu ve -80 °C'de saklandı.

Dekapitasyonun akabinde hayvanların kafaları alınarak, oksipito-frontal yönde her iki paryeto-temporal sütür hatları boyunca kemik dokuları kesildi. Kemik dokunun ekarte edilmesinden sonra, eğimli ve uzun bir pens yardımıyla beyin dokusu künt diseksiyonla çıkarıldı. Kuru buz üzerine alınarak hızla donduruldu ve -80 °C'deki derin dondurucuya kondu.

Kafa boşluğunun tabanında bulunan hipofiz bezi yine künt diseksiyonla çıkarıldı. İnce bir pens yardımıyla bezin ortasında bulunan NH bölgesi elde edildi ve kuru buz içinde donduruldu. Plastik ependorf tüpe alınarak -80 °C'deki derin dondurucuda saklandı.

4.2.5. Mikrodiseksiyon ve Mikropanç İşlemleri

Beyin örnekleri derin dondurucudan alınıp kuru buz üzerine yerleştirildi. Ön frontal bölge ve serebellumun distal bölgesi düzgün bir şekilde kesildi. Beyinin ventral yüzeyi alta, frontal yüzü üste gelecek şekilde, -25 °C'ye ayarlanmış alkol soğutmalı mikrotomun (Leitz, Wetzler, Almanya) platformuna dondurucu jel (Leica Instrument, Nussloch, Almanya) yardımıyla yapıştırıldı. Beynin etrafı kuru buz parçaları ile desteklendi.

Platform üzerine yerleştirilen donmuş beyinde 1 mm kalınlıktaki koronal mikrodiseksiyonlarla korpus kallozuma ulaşıldı. 100 μ m'lik kesitlerle anterior komissur görülünceye kadar ilerlendi (Bregma -0.25 mm). 700 μ m'lik bir kesit ekarte edilerek SON'ların başladığı noktaya gelindi (Bregma -0.95 mm). Bu aşamada 450 μ m kalınlığında ilk kesit (Bregma -1.40 mm), 400 μ m kalınlığındaki 2. kesit (Bregma -1.80 mm) ve 400

μm 'lik 3. kesit (Bregma -2.20 mm) alınarak kuru buz kabındaki lam üzerine yerleştirildi. SON ve PVN alanları olmadığı için 350 μm 'lik alan (Bregma -2.55 mm'ye kadar) ekarte edildi. Son olarak 450 μm kalınlığındaki 4. kesit (Bregma -3.00 mm) elde edildi. 1. kesitten SON, 2. kesitten SON ve PVN, 3. kesitten PVN ve 4. kesitten de SON'un retrokiyazmatik uzantısı *micro-punc* yöntemiyle diseksiyon mikroskopu kullanılarak çıkarıldı. Panç işlemi 0.3 μm iç çapa sahip özel panç iğneleriyle gerçekleştirildi. SON'un çıkarılmasında optik kiyazma, PVN'un çıkarılmasında 3. ventrikül ve retrokiyazmatik uzantısının çıkarılmasında da optik traktustan referans olarak yararlanıldı.

Panç yapılan nükleus dokuları hemen kuru buza temas ettirilerek çözünmemeleri sağlandı ve kuru buz kabındaki plastik ependorf tüplere kondu. Derin dondurucuya alınarak -80 $^{\circ}\text{C}$ 'de saklandı.

4.2.6. Beyin Dokularının Ekstraksiyonu

SON, PVN ve arka hipofiz dokuları bulunan ependorf tüpler, derin dondurucudan çıkarıldı. NH tüplerine 150 μl 3,4-Dihydroxibenzylamine (DHBA, Sigma Chemicals Co., St. Louis, ABD) ile 300 μl 0.1M HCl (Surechem Products Ltd, İngiltere), içinde SON ve PVN bulunan diğer tüplere ise 50 μl DHBA, ile 100 μl 0.1M HCl ilave edildi. Vorteks ile homojenize oluncaya kadar 5-6 dk karıştırıldı. Homojenizasyondan sonra numuneler santrifüj cihazına yerleştirildi. $+4$ $^{\circ}\text{C}$ sıcaklıkta 3000 devir/dk hızında 10 dk. santrifüj edildi. Santrifüjden sonra tüplerin üst bölgesindeki berrak sıvı içeriği mikropipetle alındı ve $0,5$ ml'lik ependorf tüplere kondu. İçinde çökelti kalan diğer tüplerle birlikte kuru buz kabında dondurularak derin dondurucuya yerleştirildi.

4.3. Analiz İşlemleri

4.3.1. Oksitosin Ölçümü

Serum OT tayini radioimmunoassay (RIA) ile yapıldı. Analiz sırasında RIA sensitivitesi $3-4$ pg/ml idi. Intra ve inter-assay katsayıları, sırasıyla 7.5 ve 14.6 olarak belirlendi. Uygulanan protokolünün güvenilirliği, "blank plazma"ya karşı bilinen miktarlardaki OT'in (3 , 5 , 20 ve 200 pg/ml, ve $n=5$ her doz için) ölçümlenmesi ile test edildi. Elde edilen bu standart OT miktarları için regresyon eşitliği $Y = 0.99 X 0.14$ olarak

hesaplandı. Tüm OT ölçümleri Profesör Jan Kotwica tarafından Polish Academy of Sciences, Institute of Animal Reproduction and Food Research'te (Kortowo, Polonya) gerçekleştirildi. OT RIA metodu detaylı olarak daha önce bildirilmiştir (160, 294).

4.3.2. Beta Endorfin Ölçümü

Plazma β endorfin düzeyleri RIA yöntemiyle Dr. Istvan Barna tarafından Hungarian Academy of Science Institute of Experimental Medicine'de (Budapeşte, Macaristan) tayin edildi. Bu amaçla ekstrakte edilmemiş plazma kullanıldı. Analizler, molar düzeyde met-enkefalin, leu-enkefalin ve β endorphin ile kros-reaksiyon vermeyen fakat β lipotropin ile %30 oranında benzerlik gösteren β endorfin antikorunu (BN-3, Chicago, ABD) ile gerçekleştirildi. β endorfin RIA metodu detaylı olarak Dr. Barna tarafından daha önce bildirilmiştir (367). Deneylerimizde β endorfin için intra ve inter assay katsayıları sırasıyla 5.1 ve 7.2 olarak belirlendi.

4.3.3. Östrojen ve Progesteron Tayinleri

Tüm örneklerin serum östrojen ve progesteron düzeyleri Chemiluminescent Enzyme Immunoassay yöntemi ile belirlendi. Tayinlerde Immulite 2000 hormon analizörü ve Immulite östrojen ve progesteron kitleri kullanıldı (Diagnostic Products Corp, LA, CA, ABD). Östrojen ve progesteron analizleri F.Ü. Tıp Fakültesi Biyokimya A.D. laboratuvarında gerçekleştirildi.

4.3.4. Monoamin Tayinleri

Hipotalamus ve NH örneklerindeki NA ve DHPG düzeyleri, Elektrokimyasal Deteksiyonlu-Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (High Performance Liquid Chromatography with Electrochemical Detection, HPLC-ECD, Gilson, Villiers-le-bel, Fransa) kullanılarak tayin edildi.

NH ve nükleus dokuları tartılamayacak kadar küçük oldukları için, içinde santrifüjden sonra çökelti kalan numunelerde total protein tayinleri yapıldı. HPLC'den elde edilen pg cinsinden monoamin miktarları, spektrofotometreden elde edilen μg cinsinden

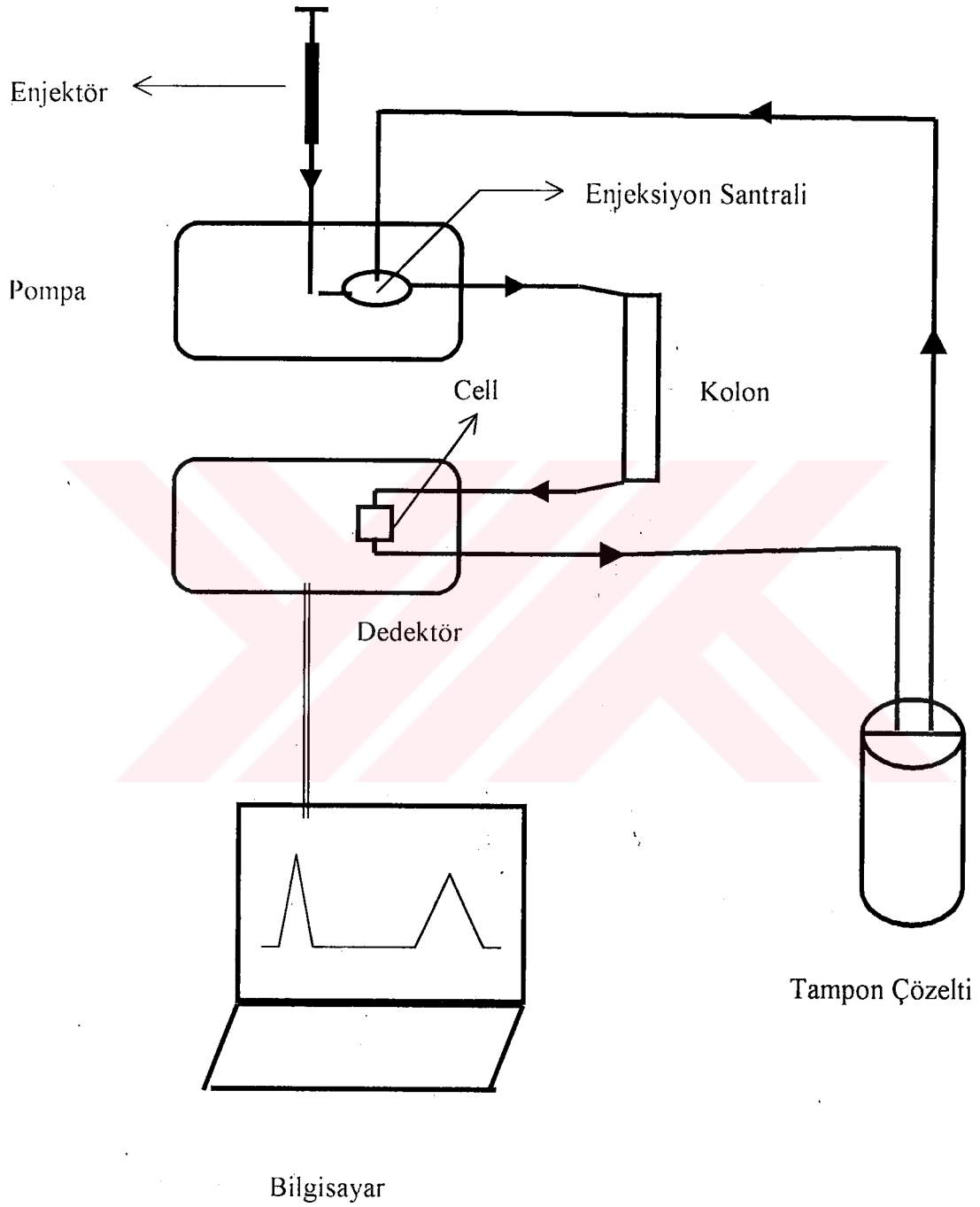
protein değerlerine bölüdü. Sonuçta monoamin konsantrasyonları pg amin/ μ g protein olarak değerlendirildi

4.3.4.1. Total Protein Tayini

NH, SON ve PVN tüplerinde santrifüjden sonra kalan çökelti protein tayininde kullanıldı. Tüplere 0,1 M NaOH çözeltisinden 210 μ l eklenerek +4 °C'de inkübe olmaları sağlandı. Ertesi gün birkaç dakika vortekste karıştırıldıktan sonra her örnek 2 spektrofotometre küvetine 100'er μ l olarak kondu. Küvetlere 0.9 ml distile su ve 1 ml Coomassie Blue (Pierce, Illinois, ABD) ilave edildi. Spektrofotometrede (Jasco V-530, Tokyo, Japonya) 595 λ dalga boyunda okunarak absorbans değerleri elde edildi. Her bir numune için elde edilen iki değerin ortalaması alındı. Lowry ve arkadaşları (187) tarafından bildirilen şekilde bovine serum albumin (Sigma Chemicals Co., St. Louis, ABD) kullanılarak standart eğri hazırlandı ve elde edilen $y=0,43/2i944 \times 10^{-3}$ formülünde ortalama absorbans "y" yerine konarak total protein değerleri μ g olarak saptandı. Spektrofotometrik total protein tayini daha önce detaylı olarak Yılmaz ve arkadaşları (364) tarafından bildirilmiştir.

4.3.4.2. Noradrenalin ve Dihidroksifenilglükol Tayini

HPLC, yüksek basınç altında kimyasal ayrışmanın hızlandırılması esasına dayanan bir sıvı kromatografisidir. HPLC'de temel prensip, bir numunenin yüksek basınç altında bir tampon çözelti vasıtasıyla kolon içinden koşturulmasıdır. Tampon çözelti önceden belirlenmiş bir akım hızıyla (1 ml/dk.) sirküle edilir. Numune içindeki maddeler, kolondan geçerken kimyasal uygunluklarına göre (içerdikleri OH⁻ iyonu miktarıyla orantılı olarak) ayrışırlar. Bu nedenle, her madde elektrokimyasal dedektöre farklı zamanlarda ulaşır ve sisteme bağlı bilgisayar ekranındaki kromatogramda farklı zamanlarda pik olarak ortaya çıkar. Bu pik alanları bilgisayar programında otomatik olarak hesaplanır ve ekrandan okunur. Ayrışan maddelerin konsantrasyonları ile pik alanları arasında doğru orantı vardır. Bir HPLC-ECD modeli Şekil 4.1'de gösterilmiştir.



Şekil 4.1: Bir HPLC-ECD'nin Şematik Olarak Gösterilmesi

Analizlerde S50DS2-250A, 25cm, HICHROM, C₁₈ paslanmaz çelikten yapılmış mikro parçalardan oluşmuş ve üzeri octadecyl silane hypersil (5µm) ile kaplanmış analitik kolon kullanıldı.

Tampon çözeltinin HPLC'deki fonksiyonu (pompadan gelen yüksek basınç altında) enjekte edilen numunenin sistem içerisinde taşınmasını sağlamaktır. Çözeltiyi oluşturan maddeler, analiz yapılması düşünülen kimyasal maddelerin elektrokimyasal özelliklerine göre bazı değişiklikler içerir. Monoaminlerin analizi için deneylerimizde kullanılan tampon çözeltinin içeriği aşağıdaki gibi hazırlandı;

Mobil Faz:

- 25 ml HPLC metanol (Merck, Darmstadt, Almanya)
- 3 ml tetrahidroforan (Merck, Darmstadt, Almanya)
- 1,15 ml glasiyal asetik asit (Merck, Darmstadt, Almanya)
- 6,74 gr sitrik asit (Surechem Products Ltd, İngiltere)
- 4,81 gr sodyum sitrat (Merck, Darmstadt, Almanya))
- 400 mg heptasulfonyl asit (Sigma Chemicals Co., St. Louis, ABD)
- 47 mg EDTA (Sigma Chemicals Co., St. Louis, ABD)

Bu kimyasallar 100 ml bidistile su içinde çözüldü ve çözelti 1 lt'ye bidistile suyla tamamlandı. 1M NaOH (Merck, Darmstadt, Almanya) ile solusyonun pH'sı 4,9'a ayarlandı.

Çözeltideki hava kabarcıklarını elimine için 15-20 dakika süreyle sonikasyon uygulandı. Analizler sırasında tampon çözelti haftalık olarak değiştirildi. Sistemde hem manuel hem de bilgisayar kontrollü, tampon çözelti ve numunenin yüksek basınç altında sirkülasyonunu sağlayan bir HPLC pompası (Gilson 307 Model, R010B) kullanıldı. Akım hızı analiz esnasında ECD açıkken 1 ml/dk, analiz yapılmayan diğer süreçlerde ise 0.2 ml/dk olarak ayarlandı.

Standart çözeltiler veya analizi yapılmak istenen numuneler sisteme enjeksiyon ünitesi (*injection port*)'nden verildi. Enjeksiyon işlemi 100 µl'lik mikroenjektörle yapıldı. Uygulamadan önce ve sonra enjeksiyon ünitesi metanol ile yıkandı.

Analiz işlemlerinde kromatografi cihazına eklenmiş bir elektrokimyasal dedektör kullanıldı. Voltaj +0.70 mV olarak ayarlandı. Bu dedektör sabit akımda çalışan cam benzeri bir karbon elektrot esasına dayanmaktadır. ECD'de asıl fonksiyonu *cell* denen bölüm yapmaktadır. *Cell*, üzerinde çalışan (*working*), referans ve yardımcı olmak üzere üç elektrot taşır. Referans elektrot, 3 M NaCl ihtiva eden bir kısım ile (Ag/AgCl filament) *cell'e* bağlıdır.

Tampon çözelti içerisinde yüksek basınç altında koşturulan maddeler analitik kolon üzerinde iyonize olurlar ve daha sonra dedektör tarafından okunurlar. Farklı maddeler farklı zamanlarda iyonize olduğu için bu değişiklikler bilgisayar monitöründe değişik zamanlarda pik olarak yansır. Deteksiyonu yapılan monoaminler ve metabolitlerin standart çözeltileri tek tek sisteme verilir ve monitörde ortaya çıkan piklerin görünme zamanları kaydedilerek, hangi maddenin hangi zaman diliminde ortaya çıktığı belirlenir. Dokulardan ekstrakte edilmiş numune çözeltiler sisteme enjekte edildikten sonra monitörde görülen pikler, standart pikleriyle karşılaştırılarak hangi madde oldukları saptanır.

Yapılan analizler sonucunda elde edilen piklerin alanları hesaplanarak monoaminlerin miktarı belirlendi. Hesaplama işleminde kullanılan formüller :

$$\text{Respons Faktör (RF)} = \frac{\text{Standart solüsyondaki DHBA'in pik alanı}}{\text{Standart solüsyondaki monoaminin pik alanı}}$$

$$\text{Pik Konsantrasyonu} = \frac{\text{Örnekteki bilinmeyen pikin alanı}}{\text{Örnekteki DHBA pikinin alanı}} \times \text{RF} \times \text{SF}^*$$

$$\text{Sonuç} = \frac{\text{Pik konsantrasyonu}}{\text{Protein ağırlığı}} \quad (\text{pg amin} / \mu\text{g protein})$$

*SF = Sulandırma Faktörü = SON ve PVN için 7.5, NH için 22.5

İstatistik: Bulguların istatistiksel işlemlerinde tek yönlü varyans analizi kullanıldı (Minitab 10.0). P değerinin 0.05'den küçük olması anlamlı kabul edildi.

5. BULGULAR

5.1. Birinci Protokol Serum Oksitosin ve Plazma Beta Endorfin Düzeyleri

Serum oksitosin değerlerinin, gebeliğin 21. günü sabahı (B) ve doğum esnasında (C) dekapite edilen guruplardaki sıçanların, gebeliğin 20. günü sabah dekapite edilen gurupla (A) karşılaştırılmasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar gözlenmedi ($p>0.05$ ve $p>0.05$). Plazma β endorfin seviyeleri değerlendirildiğinde ise A grubuyla C grubu arasında önemli bir farklılık saptandı ($p<0.01$). Her 3 gruba ait serum oksitosin ve plazma beta endorfin değerleri Tablo 5.1'de aritmetik ortalama \pm standart hata olarak gösterilmiştir.

5.2. Birinci Protokol Serum Östrojen ve Progesteron Düzeyleri

Serum östrojen değerleri doğum gurubunda diğer guruplara kıyasla biraz daha yüksek olarak gözlenirse de, her 3 gurup arasında anlamlı bir farklılık ortaya çıkmadı ($p>0.05$). Serum progesteron seviyeleri değerlendirildiğinde, A gurubu değerlerinin oldukça yüksek olduğu görüldü. Bu gurup değerleri B gurubu ve C gurubu değerleriyle karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak önemli derecede azalmalar kaydedildi ($p<0.001$ ve $p<0.001$). C gurubu değerlerinin ise B gurubu değerlerinden de belirgin şekilde düşük olduğu gözlendi ($p<0.01$). Serum östrojen ve progesteron değerleri Tablo 5.2'de sunulmuştur.

5.3. İkinci Protokol Serum Oksitosin Değerleri

Gebeliğin 20. günü ICV infüzyondan sonra dekapite edilen guruplarda, serum oksitosin seviyelerinin istatistiksel analizi sonucunda, μ agonist ve κ antagonist guruplarının kontrol gurubu değerleriyle paralellik sergiledikleri gözlendi. Kontrol grubuyla kıyaslandığında, μ antagonist grubunda önemli bir artma tespit edildi ($p<0.01$). κ agonist grubunda da bir azalmanın olduğu belirlendi ($p<0.05$). Serum oksitosin seviyeleri Tablo 5.3'de verilmiştir.

5.4. Supraoptik Nükleus Monoamin Konsantrasyonları

SON NA seviyeleri değerlendirildiğinde, μ antagonist grubunda serum oksitosin değerleriyle paralel bir şekilde belirgin bir artma ortaya çıktı ($p<0.01$). Diğer gruplarda ise istatistiksel anlamda farklılık gözlenmedi. Kontrol ve diğer gruplardaki DHPG konsantrasyonlarının da, birbirine yakın düzeylerde olduğu belirlendi. SON'daki NA ve DHPG değerleri Tablo 5.4'de sunulmuştur.

5.5. Paraventriküler Nükleus Monoamin Konsantrasyonları

PVN'daki monoamin konsantrasyonları SON'daki karşılıklarıyla benzer farklılıklar gösterdi. Yine μ antagonist grubundaki NA seviyesi, kontrol grubundan belirgin olarak daha yüksek ($p<0.05$) düzeydeyken, diğer gruplarda önemli bir değişme sergilemedi. DHPG değerleri de kontrol, μ agonist, μ antagonist, κ agonist ve κ antagonist gruplarında birbirine oldukça yakın seviyelerde ortaya çıktı. PVN monoamin değerleri Tablo 5.5'de gösterilmiştir.

5.6. Nörohipofiz Monoamin Konsantrasyonları

Kontrol ve diğer gruplar arasındaki hipofiz arka lobu NA düzeylerinde, istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık ortaya çıkmadı. Aynı şekilde DHPG seviyeleri de bütün gruplarda birbirine yakın seyretti. Nörohipofizdeki NA ve DHPG konsantrasyonları Tablo 5.6'da gösterilmiştir.

SERUM OKSİTOSİN VE PLAZMA BETA ENDORFİN DEĞERLERİ			
GRUPLAR (N)	A (7)	B (7)	C (9)
OT (pg/ml)	28.97±7.97	29.75±3.49	41.0±5.13
β ENDORFİN (pmol/ml)	32.07±5.55	25.24±7.81	13.98±2.00

Tablo 5.1: Birinci protokol grupları serum oksitosin ve plazma β endorfin ortalama±SH değerleri. (A; Gebeliğin 20. gününde dekapite edilen grup, B; Gebeliğin 20. gününde dekapite edilen grup, C; Doğum esnasında dekapite edilen grup).

SERUM ÖSTROJEN VE PROGESTERON DEĞERLERİ			
GRUPLAR (N)	A (7)	B (7)	C (9)
ÖSTROJEN (pg/ml)	48.59±7.13	41.24±7.64	60.69±5.59
PROGESTERON (ng/ml)	1258±300	31.67±7.41	8.24±1.29

Tablo 5.2: Birinci protokol grupları serum östrojen ve progesteron ortalama±SH değerleri.

İKİNCİ PROTOKOL SERUM OKSİTOSİN DEĞERLERİ					
GRUPLAR (N)	KONTROL (8)	μ Agonist (8)	μ Antagonist (8)	κ Agonist (6)	κ Antagonist (8)
OT (pg/ml)	46.45±9.77	46.90±8.83	103.8±14.4	18.98±6.83	36.81±8.93

Tablo 5.3: İkinci protokol grupları serum oksitosin ortalama±SH değerleri.

SUPRAOPTİK NÜKLEUS MONOAMİN KONSANTRASYONLARI					
GRUPLAR (N)	KONTROL (8)	μ Agonist (8)	μ Antagonist (8)	κ Agonist (6)	κ Antagonist (8)
NA (pg amin/ μ g protein)	0.92±0.19	0.57±0.27	7.14±1.95	0.65±0.13	0.39±0.16
DHPG (pg amin/ μ g protein)	4.81±0.96	5.69±4.05	7.63±2.73	12.78±5.47	3.76±1.29

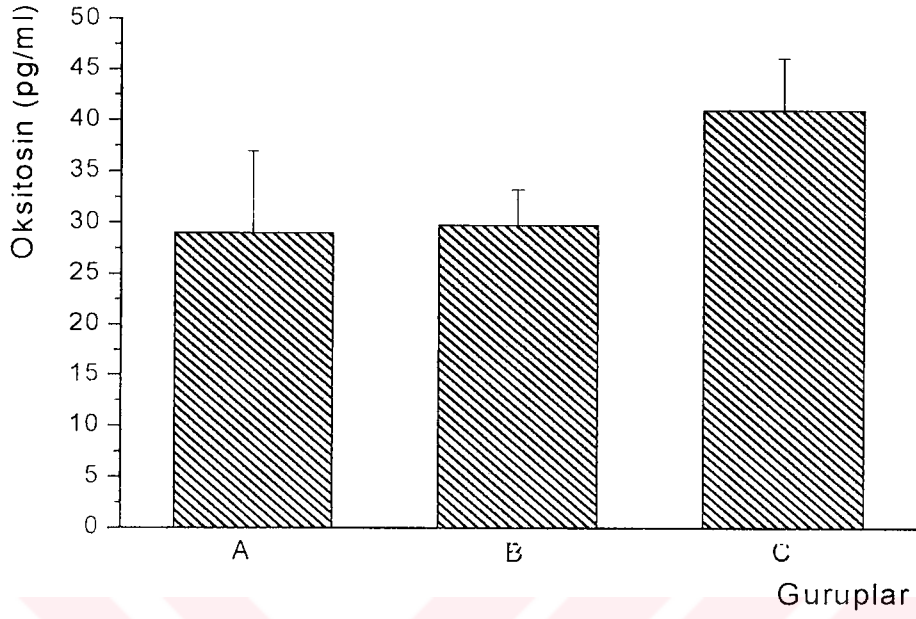
Tablo 5.4: İkinci protokol grupları SON monoamin ortalama±SH değerleri.

PARAVENTRİKÜLER NÜKLEUS MONOAMİN KONSANTRASYONLARI					
GRUPLAR (N)	KONTROL (8)	μ Agonist (8)	μ Antagonist (8)	κ Agonist (6)	κ Antagonist (8)
NA (pg amin/ μ g protein)	1.59 \pm 0.56	1.65 \pm 1.07	4.23 \pm 0.97	1.19 \pm 0.39	2.08 \pm 0.49
DHPG (pg amin/ μ g protein)	6.36 \pm 1.27	4.31 \pm 1.46	7.81 \pm 1.15	5.97 \pm 1.15	4.81 \pm 1.75

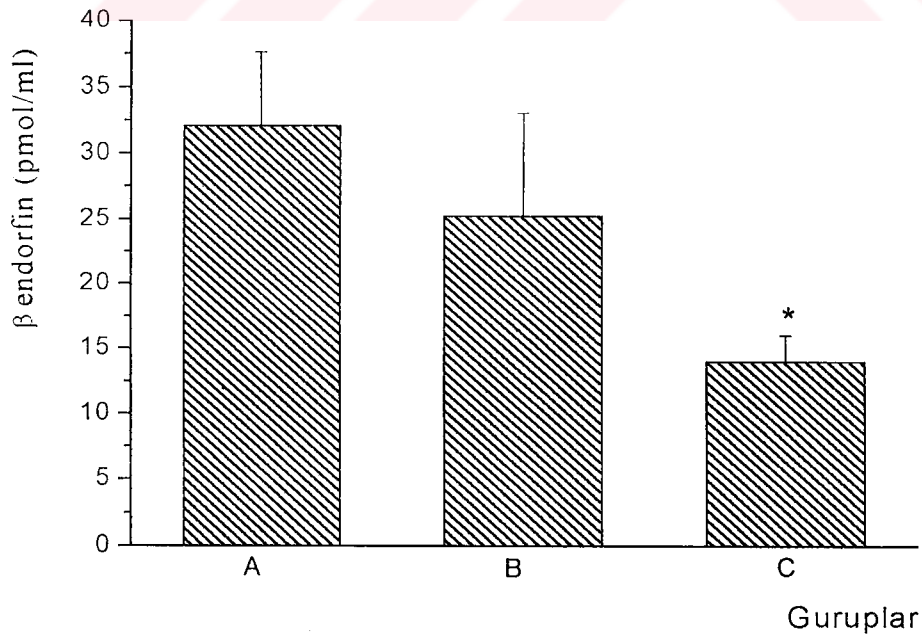
Tablo 5.5: İkinci protokol grupları PVN monoamin ortalama \pm SH değerleri.

NÖROHİPOFİZ MONOAMİN KONSANTRASYONLARI					
GRUPLAR (N)	KONTROL (8)	μ Agonist (8)	μ Antagonist (8)	κ Agonist (6)	κ Antagonist (8)
NA (pg amin/ μ g protein)	0.69 \pm 0.25	0.53 \pm 0.20	0.54 \pm 0.15	0.52 \pm 0.44	0.32 \pm 0.13
DHPG (pg amin/ μ g protein)	15.86 \pm 3.47	12.33 \pm 2.05	13.68 \pm 2.29	14.36 \pm 3.57	8.13 \pm 2.98

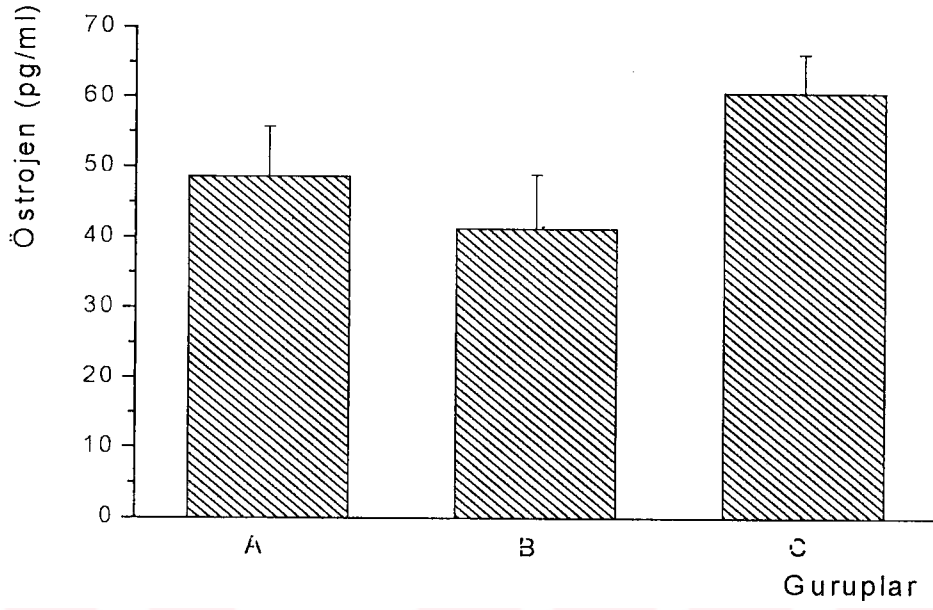
Tablo 5.6: İkinci protokol grupları nörohipofiz monoamin ortalama \pm SH değerleri.



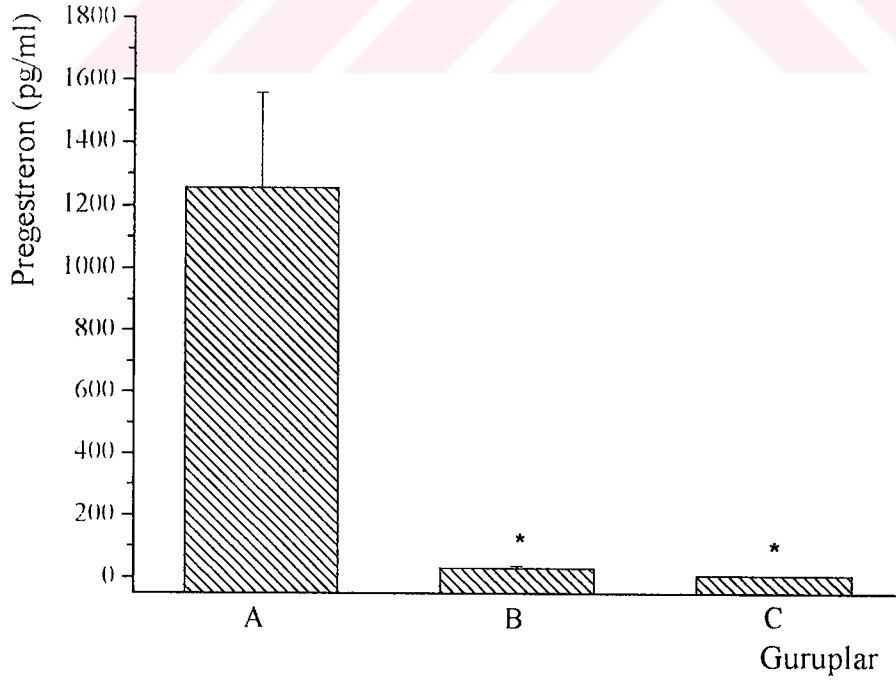
Grafik 5.1: Birinci protokol gurupları oksitosin (pg/ml) değerleri. (A: Gebeliğin 20. günde, B: Gebeliğin 21. günde, C: Doğum anında dekapite edilen guruplar).



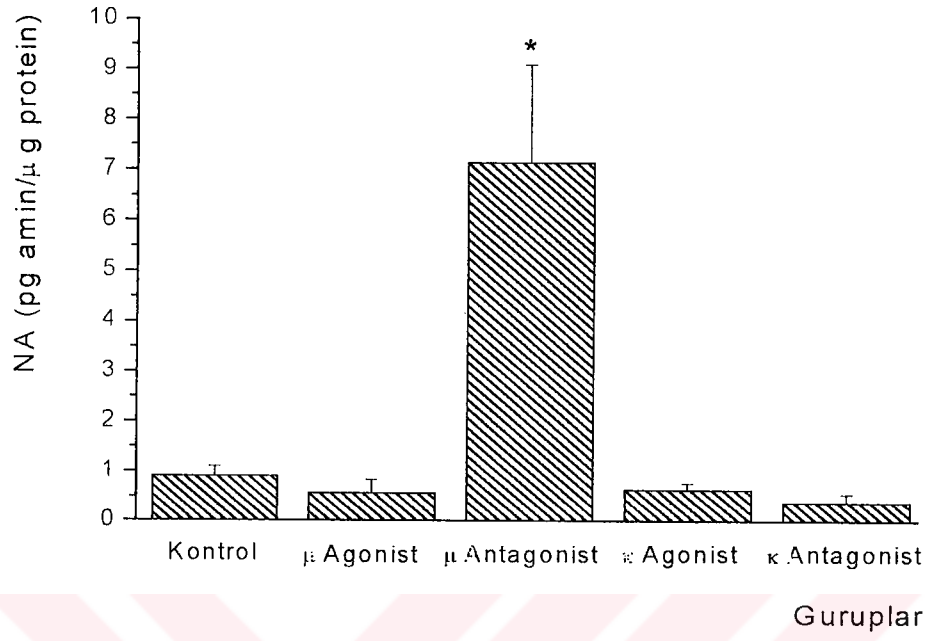
Grafik 5.2: Birinci protokol gurupları beta-endorfin (pg/ml) değerleri (A: Gebeliğin 20. günde, B: Gebeliğin 21. günde, C: Doğum anında dekapite edilen guruplar). * $p < 0.01$ (A ve C grubu kıyaslandığında).



Grafik 5.3: Birinci protokol gurupları östrojen (pg/ml) değerleri. (A: Gebeliğin 20. günde, B: Gebeliğin 21. günde, C: Doğum anında dekapite edilen guruplar).



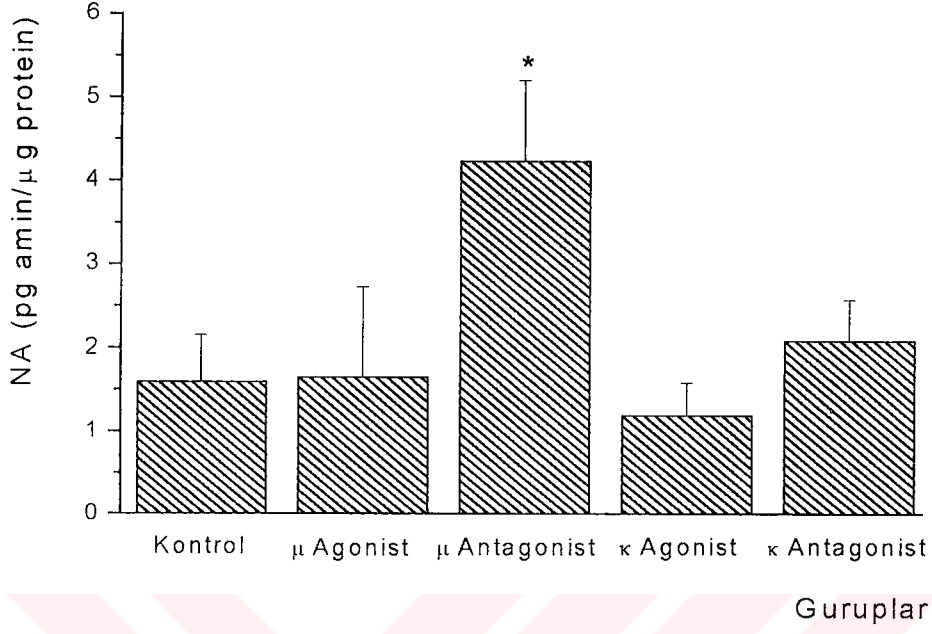
Grafik 5.4: Birinci protokol gurupları progesteron (pg/ml) değerleri. (A: Gebeliğin 20. günde, B: Gebeliğin 21. günde, C: Doğum anında dekapite edilen guruplar) * $p < 0.001$ (A-B ve A-C grubu kıyaslandığında).



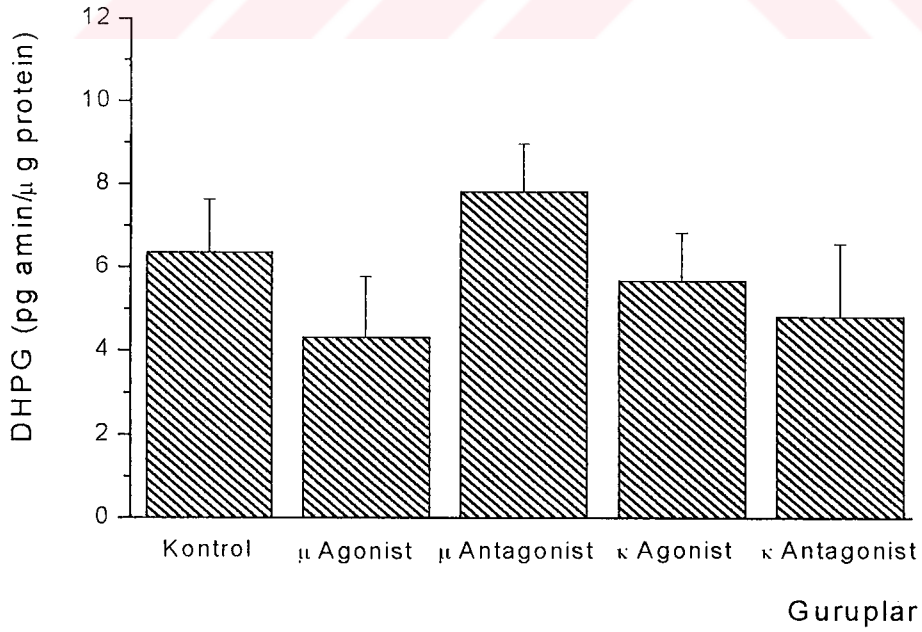
Grafik 5.5: İkinci protokol gurupları SON NA (pg amin/μg protein) değerleri. * $p < 0.01$ (Kontrol gurubuyla kıyaslandığında).

ein) 20,0

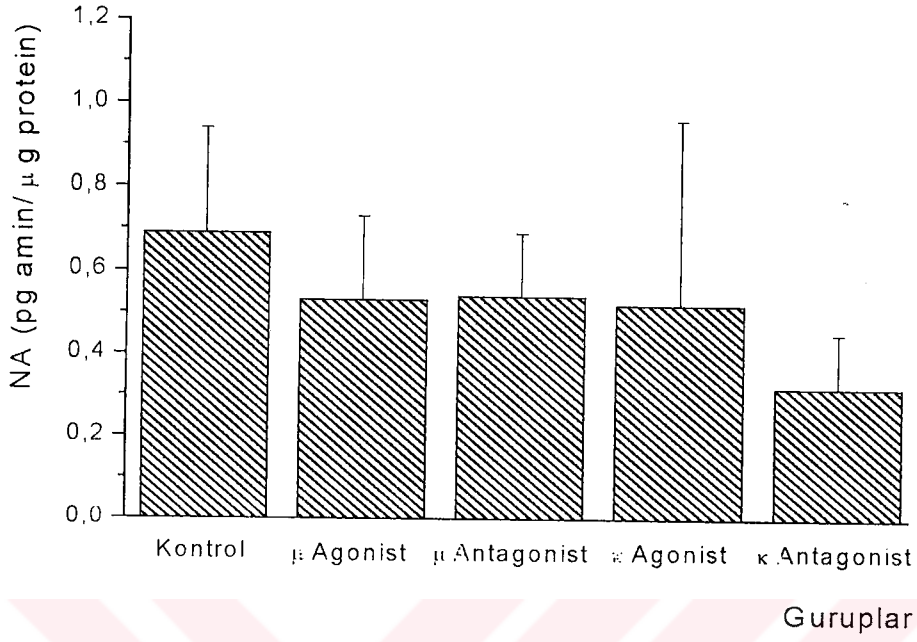
T



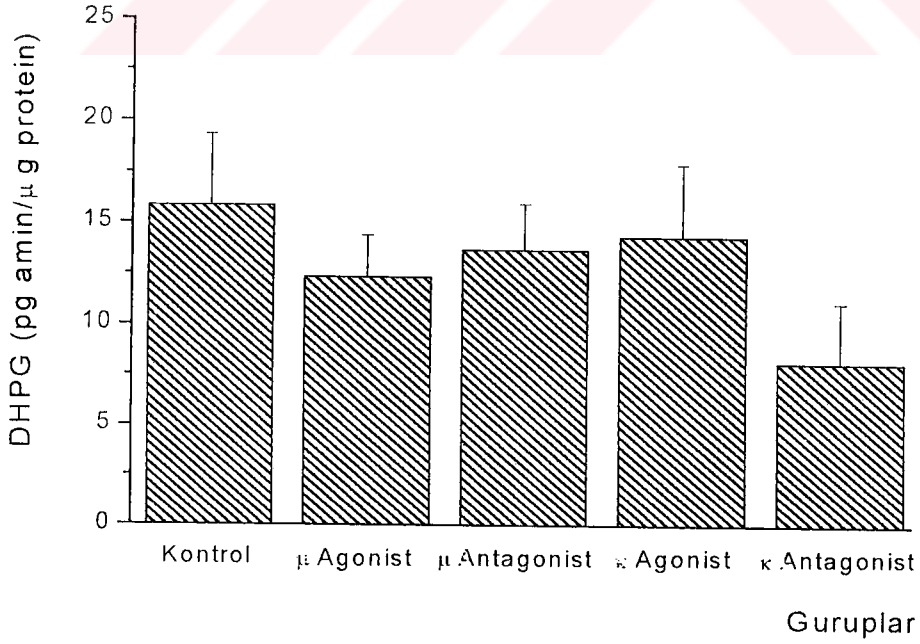
Grafik 5.7: İkinci protokol gurupları PVN NA (pg amin/μg protein) değerleri. * $p < 0.05$ (Kontrol gurubuyla kıyaslandığında).



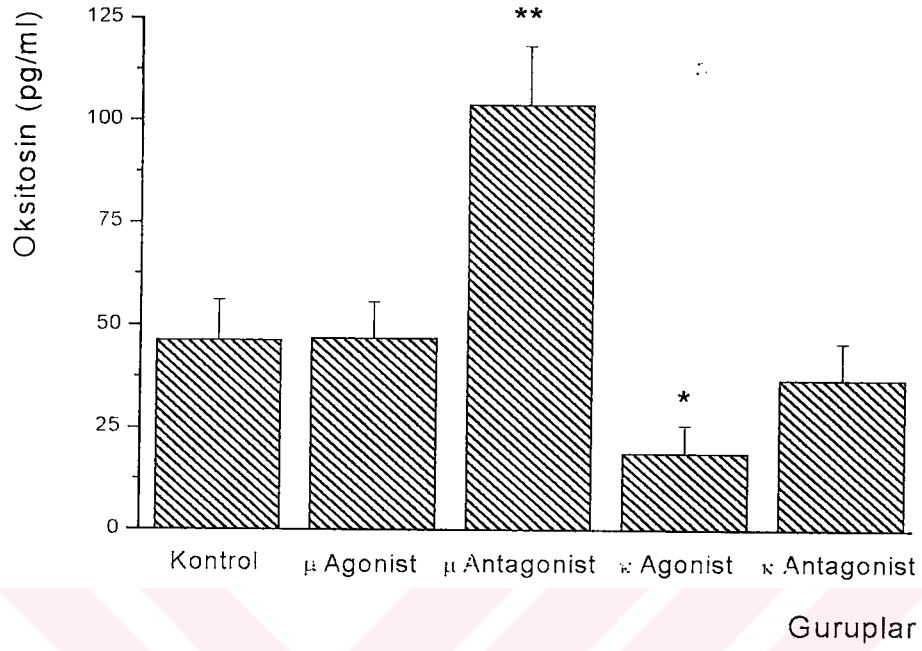
Grafik 5.8: İkinci protokol gurupları PVN DHPG (pg amin/μg protein) değerleri.



Grafik 5.9: İkinci protokol grupları NH NA (pg amin/μg protein) değerleri.



Grafik 5.10: İkinci protokol grupları NH DHPG (pg amin/μg protein) değerleri.



Grafik 5.11: İkinci protokol gurupları oksitosin (pg/ml) değerleri.
* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ (Kontrol gurubuyla kıyaslandığında).

6. TARTIŞMA VE SONUÇ

Doğumla ilgili süreçlere katılan uterin afferent sinirler (127, 128) beyin kökünde sonlanırlar (241). Vagal ve genel duyuşal afferentler de beyin kökü katekolaminerjik nöronlarına projekte olmaktadır (75). Transgenik OT *knock out* fareler üzerinde gerçekleştirilen bazı çalışmalar OT yokluğunda doğumun ilerleyebileceğini gösterse de (233, 365), memelilerde OT sekresyonu doğumun başlatılmasında ve sürdürülmesinde (timing) önemli bir rol oynamaktadır (127, 283). Doğum sırasında ortaya çıkan OT salgılanması, doğum kanalındaki fötusların hareketleriyle tetiklenen OT hücrelerinin koordineli biyoelektriksel ateşlenmelerinin bir sonucu olarak pulsatil karakterdedir (127, 309). Fakat OT infüzyonu, gebeliğin son günü öğleden sonrasına kadar doğumu indükleyemez (7). Bu durum, OT'in uterusu relatif duyarsızlığının bir sonucudur çünkü OT reseptörleri doğumdan önceki birkaç saat içinde apregüle olur (151). Santral mekanizmalar doğumda OT sisteminin erken aktivasyonunu önler. Gebeliğin son günü sabahında OT hücreleri santral etkili opioidler tarafından baskılanır (93).

Bu çalışmada birinci protokol gurubu OT seviyelerinin, gebeliğin 20. ve 21. günüyle -diğerlerinden hafifçe yüksek olsa da- doğum gurubunda birbirine yakın değerlerde olduğu belirlendi. Doğum gurubundaki dekapitasyon ve kan örneği elde etme işlemi, 2. veya 3. yavrunun doğması esnasında gerçekleştirilmiştir. Bu grupta beklenen yüksek OT düzeyinin ortaya çıkmaması, OT pulsundan sonra oluşan uterus kontraksiyonu ve akabinde fetusun ekspulsiyonu ile birlikte dekapitasyon için geçen zamanın, OT pulsunun yakalanmasını engellemiş olmasıyla açıklanabilir. OT'in yarılanma ömrünün 1-2 dakika gibi çok kısa olması, bu sonucun ortaya çıkmasında muhtemel rolü oynamıştır.

Gebelik periyodunda kan seviyeleri değişen steroid hormonları olan östrojen ve progesteron, OT'le ilgili süreçleri etkilemektedir. Gebelikte progesteron düzeyi doğumdan önce azalırken östrojen düzeyi aynı kalmaktadır (38). Progesteronun plazma konsantrasyonundaki normal düşme ertelenirse, uterin değişiklikler önlenir ve gebelik süresi uzar (28, 110). Bir progesteron reseptör antagonisti olan RU486 ile tedavi ise, gebelikte OT'e miyometriyal duyarlılığı artırır (95). Bu tür klasik uterin etkilerinin yanında gebelik sonundaki steroid değişiklikler, doğumla ilgili nöroendokrin mekanizmaları etkileyebilir. Östrojenin verilmesi, OT nöronlarının elektriksel aktivitesini artırır (2, 3). Progesteron OT sentez ve sekresyonunu inhibe ederken (40, 68) östrojen

stimüle edici etkilere sahiptir (253). Progesteronun ICV yolla verilmesi, vajinal distensiyona cevapta OT salınımını azaltır (278). Progesteron ve metabolitleri, gebeliğin sonunda supraoptik OT nöronlarının elektriksel aktivitesini baskılar (146). Gebeliğin son dönemindeki sıçanlara progesteron uygulanması, doğum eylemini geciktirmiş ve doğumdan az önce SON'da ortaya çıkan fos ekspresyonunu engellemiştir (8). Mevcut çalışmada, 20 günlük gebe gurubundaki progesteron seviyesi diğer iki guruba göre oldukça yüksek olarak dedekte edildi. 21 günlük gebe hayvanlarda oldukça düşük ve doğum gurubunda ise en düşük seviyede olduğu belirlendi. Bu sonuçlar, bahsedilen diğer çalışmaların bulgularını tamamen destekler niteliktedir. Deney sonuçlarındaki östrojen değerleri, 20 ve 21 günlük gebe guruplarda birbirine paralelken, doğum gurubunda istatistiksel olarak anlamlı olmasa da hafif bir yükselme gösterdi. Böylece doğum gurubundaki östrojen/progesteron oranı, doğum öncesi guruplara göre çok belirgin şekilde östrojen lehine daha da artmış oldu. Bu durum sıçanlardaki klasik progesteron çekilmesiyle tamamen uyumlu bir durum ortaya koymaktadır.

MN'da hormonlarla birlikte lokalize olan dinorfin, met-enkefalin ve diğer enkefalin peptitleriyle, MN'la bağlantılı hipotalamik alanlardaki β endorfin gibi endojen opioidlerin, gebelik esnasında OT nöronlarının inhibisyonundan sorumlu olabilecekleri bildirilmiştir (90). Fakat gebelik sürecinde, hipotalamustaki nöronlarda pro-dinorfin (92) ve pro-enkefalin A (94) mRNA düzeylerinde önemli bir değişim olmazken, hipotalamus (345) ve plazma (39) β endorfin düzeylerinde belirgin artışlar saptanmıştır. Yine, ARN'da gebeliğin sonuna doğru daha fazla nöronda POMC gen ekspresyonu ortaya çıkmakta, fakat SON ve PVN'ta pro-dinorfin ve pro-enkefalin A ekspresyonunda artış görülmemektedir (92). Bu çalışmadaki plazma β endorfin seviyeleri, 20 günlük gebe gurupta yüksek düzeydeyken, 21 günlük gebelerde ve çok daha bariz şekilde de doğum gurubunda azalmalar göstermiştir. Bu sonuçlar, gebeliğin son döneminde OT nöronları üzerinde baskılayıcı rol oynayan muhtemel endojen opioid peptidin β endorfin olabileceğini göstermektedir. Son zamanlarda hipotalamusta yeni bir endojen opioid aile olan endomorfınlerin bulunduğu belirlenmiştir (366). Spesifik μ agonist etkili endomorfın-1 izole SON OT nöronlarında ateşlenmeyi inhibe etmektedir (88, 89). Fakat endomorfınlerin kesin lokalizasyonları ve fizyolojik rolleriyle ilgili bilgiler oldukça yetersizdir.

β endorfin miktarlarındaki bu azalmaları, gebelikte kan seviyeleri önemli oranda değişen steroid hormonları etkileyebilir. Progesteron, gebelikte hipotalamustaki β endorfin ve POMC mRNA miktarını artırırken (39, 356), östrojen zıt etkilere sebep olmaktadır (279, 321, 345) β endorfin üzerindeki bu steroid etkiler, östrojen ve progesteron reseptörlerine sahip olan ARN nöronları üzerine direk etkiyle oluşabilir (106, 167). Çalışmamızda, bu bilgilere paralel bir şekilde, 20 günlük gebe grupta progesteron ve β endorfin seviyesi yüksek, doğum gurubunda ise en düşük düzeyde bulunmuştur. β endorfin seviyesinin doğum gurubunda azalması, muhtemelen OT hücreleri üzerindeki opioid baskılanmanın ortadan kalkmasına ve OT sekresyonunun aktif hale gelmesine yol açmaktadır.

Bu çalışmanın sonuçları, yalnız başına santral olarak μ reseptör antagonisti uygulanmasının, gebeliğin son döneminde OT nöronları üzerinde var olan endojen μ opioid baskılanmayı ortadan kaldırarak kan OT düzeyinin yükselmesini sağladığını göstermektedir. Morfin OT düzeyinde bir azalmaya neden olmazken *clonimamox*'un OT değerini arttırması, gebeliğin son döneminde OT nöronları üzerinde tonik karakterde önemli bir μ opioid inhibisyonun olduğunu ortaya koymaktadır.

Morfinin sistemik enjeksiyonuyla meydana gelen OT hücrelerindeki ateşlenme oranının inhibisyonunu, SON içine naloksonun direk olarak verilmesi ortadan kaldırmıştır (197). Bu durum oluşan inhibisyonun SON içindeki reseptörler aracılığıyla ortaya çıktığını göstermektedir. μ reseptör aktivasyonunun, izole supraoptik nöronlarda Ca^{2+} akımlarını azaltırken (306), MN'da K^+ iletkenliğini arttırmaktadır (225, 357). Böylece μ reseptör aktivasyonunun, magnoselüler hücre aktivitesini, hem K^+ iletkenliğinin aktive edilmesi hem de Ca^{2+} akımlarının inhibisyonu yoluyla azalttığı ifade dileyebilir. Normal spontan doğum sırasında SON ve beyin kökü nöronlarında fos eksprese edilir (8, 181, 192). Nalokson enjeksiyonu gebe olmayan ve 16 günlük gebe sıçanlarda SON'da fos sentezini etkilememiş, fakat 21 günlük gebe sıçanlarda ise belirgin şekilde arttırmıştır (93). Bu durumda SON OT nöronları üzerindeki santral endojen μ opioid inhibisyon, gebeliğin 16. ile 21. günleri arasında ortaya çıkmaktadır. NRB'in bütün gruplarda SON içindeki fos ekspresyonunu etkilememesi (93), endojen opioidlerin fos ekspresyonu üzerindeki inhibitör etkilerini κ reseptörlerle değil, μ reseptörler aracılığıyla gösterdiğini ortaya koymaktadır (90).

OT nöron fonksiyonları önemli derecede sinaptik inputların kontrolü altındadır. NTS'daki A2 nöron gurubu OT hücrelerini innerve eder (265) ve normal gebelik esnasında aktive olur (193). NA'in SON nöronlarının ateşlenme oranını arttırdığı ve membran potansiyel depolarizasyonunu indüklediği bilinmektedir (359). NA uygulanması MN'da α_1 reseptör aracılı direk bir depolarizasyon ve eksitator postsinaptik potansiyellerde artma meydana getirirken (76), inhibitör postsinaptik akımların frekansını presinaptik α_2 reseptörler yoluyla azaltmaktadır (344). Morfin, SON'da CCK'le indüklenmiş NA salınımını naloksonla geri dönüşümlü olarak engellemektedir (240). Mevcut çalışma, gebeliğin son döneminde SON ve PVN'da OT hücreleri üzerindeki tonik μ opioid inhibisyona, presinaptik noradrenalin salınımının baskılanmasının da iştirak ettiğini göstermektedir. Bu durum, OT sekresyonunun inhibisyonunda, OT hücreleri üzerindeki direkt etkilerin yanında, presinaptik mekanizmaların da önemli rol oynayabileceğini ortaya koymaktadır. μ reseptör aktivasyonunun SON'da presinaptik inhibisyon oluşturabileceği elektrofizyolojik olarak da belirlenmiştir (185).

Bu çalışmada, κ agonist U50,488H'in uygulandığı guruptaki serum OT düzeyi belirgin şekilde baskılanmıştır. Aynı gurubun SON ve PVN'daki NA konsantrasyonlarında ise değişme gözlenmemiştir. Bu sonuçlar, gebeliğin son döneminde κ opioid aktivasyonun OT sekresyonunu noradrenerjik nörotransmisyon aracılı olmadan direk etkiyle veya başka bir presinaptik mekanizmayla inhibe edebileceğini göstermektedir. κ opioid reseptör aktivasyonu hipokampus (109) ve rafe nükleusta (254) eksitator inputları presinaptik yolla baskılamaktadır. Sistemik olarak enjekte edilen U50,488H OT sekresyonunu azaltarak doğumu yavaşlatmaktadır (91). κ opioid agonistlerinin nörohipofizde indüklenmiş OT sekresyonunu baskıladıkları bilinmektedir (26, 98, 369). Gebeliğin son döneminde NH'deki κ reseptör yoğunluğu azalmakta (311) ve κ opioid etki belirgin şekilde zayıflamaktadır (90). Magnoselüler hücre aktivitesi üzerindeki κ opioid inhibisyon, nükleus içi reseptörler aracılığıyla meydana gelir (197). Bu düşünce, kesit preparatlarından elde edilen kayıtlardaki bulgularla uyumludur (135). κ agonistler supraoptik hücrelerde postsinaptik potansiyelleri ve aksiyon potansiyelin Ca^{+2} komponentlerini (136) ve voltaj aktive K⁺ iletkenliğini azaltmaktadır (225).

κ antagonist uygulanmasının, μ antagonist gurubundaki gibi OT seviyesinde bir artmaya neden olmaması, gebeliğin son döneminde OT nöronları üzerinde κ reseptör aracılı endojen bir tonik opioid baskılanmanın olmadığını düşündürmektedir. Endojen bir κ opioid prokürsörü olan pro-dinorfinin gebelik döneminde hipotalamustaki nöronlarda ekspresyon oranının aynı kalması (92) ve NRB'in 21 günlük gebe sıçanlarda SON içindeki OT sekresyonu üzerinde ve fos pozitif nöron sayısında değişikliğe neden olmaması (93) bu düşünceyi destekler niteliktedir.

Nörohipofizde α_1 ve β adrenerjik reseptörlerin bulunduğu (53, 84) ve NA'in sinir uçlarının depolarizasyonundan sonra salgılandığı in vitro olarak gösterilmiştir (297). Nalokson yine in vitro ortamda NH'de elektriksel olarak stimüle edilmiş NA salınımını arttırmaktadır (370). Bu bulgu mevcut çalışmanın sonuçlarıyla uyumlu değildir. Hipofiz arka lobundaki NA ve DHPG konsantrasyonlarının bütün guruplarda benzer düzeylerde olması, santral olarak uygulanan opioidlerin, in vivo şartlarda NH'de NA salınımı üzerinde etkilerinin olmadığını göstermektedir.

Sonuç: Bu çalışmanın sonuçları birkaç maddede özetlenebilir:

- 1- Gebeliğin son dönemindeki sıçanlarda hipotalamustaki OT nöronları üzerinde, μ reseptör aracılı bir endojen opioid baskılanma mevcuttur. Bu baskılanmaya, presinaptik uçlardan NA salgılanmasının inhibisyonu da katılmaktadır. β endorfinin söz konusu etkilerden sorumlu endojen opioid olabileceği büyük olasılıktır.
- 2- Endojen κ opioidlerin bu tür bir özellikleri saptanmamıştır. Doğumdan önce oksitosin hücreleri κ opioid etkiye açıktır. Bu etki nükleus içi NA salınımını etkilememektedir.
- 3- Nörohipofizdeki noradrenalin sekresyonu üzerinde, santral uygulanan opioidlerin akut etkileri yoktur.
- 4- Klasik obstetrik bilgi olan, kemirgenlerdeki doğuma doğru ortaya çıkan progesteron çekilmesi ve östrojen/progesteron oranının östrojen lehine hızla değişmesi bu çalışmada da gözlenmiştir.
- 5- Diğer bazı nöroendokrin mekanizmalarla birlikte progesteron çekilmesi, muhtemelen β endorfindeki azalmayı tetiklemekte ve oksitosin nöronları üzerindeki opioid inhibisyon ortadan kalkarak, doğumda etkin rol oynayan oksitosin sekresyonunun induksiyonu kolaylaşmaktadır.

7. KAYNAKLAR

1. Adachi T, Hisano S, Daikoku S. (1985). Intragranular colocalization of immunoreactive methionine enkephalin and oxytocin within the nerve terminals in the posterior pituitary. *J Histochem Cytochem.* 33(9):891-96.
2. Akaishi T, Sakuma Y. (1985). Estrogen excites oxytocinergic, but not vasopressinergic cells in the paraventricular nucleus of female rat hypothalamus. *Brain Res.* 335(2):302-5.
3. Akaishi T, Sakuma Y. (1986). Projections of oestrogen-sensitive neurones from the ventromedial hypothalamic nucleus of the female rat. *J Physiol.* 372:207-20.
4. Anderson R A, Mitchell R. (1986). Distribution of GABA binding site subtypes in rat pituitary gland. *Brain Res.* 365(1):78-84.
5. Andrew R D. (1987). Endogenous bursting by rat supraoptic neuroendocrine cells is calcium dependent. *J Physiol.* 384:451-65.
6. Andrew R D, Dudek F E. (1985). Spike broadening in magnocellular neuroendocrine cells of rat hypothalamic slices. *Brain Res.* 334(1):176-9.
7. Antonijevic I A, Leng G, Luckman S M, Douglas A J, Bicknell R J, Russell J A. (1995). Induction of uterine activity with oxytocin in late pregnant rats replicates the expression of c-fos in neuroendocrine and brain stem neurons as seen during parturition. *Endocrinology.* 136(1):154-63.
8. Antonijevic I A, Russell J A, Bicknell R J, Leng G, Douglas A J. (2000). Effect of progesterone on the activation of neurones of the supraoptic nucleus during parturition. *J Reprod Fertil.* 120(2):367-76.
9. Aoki C, Go C G, Venkatesan C, Kurose H. (1994). Perikaryal and synaptic localization of alpha 2A-adrenergic receptor-like immunoreactivity. *Brain Res.* 650(2):181-204.
10. Armstrong W E. (1995). Morphological and electrophysiological classification of hypothalamic supraoptic neurons. *Prog Neurobiol.* 47(4-5):291-339.
11. Armstrong W E, McNeill T H and Schöler J. (1982). Cytoarchitectural organization of the hypothalamic paraventricular and anterior commissural nuclei: An immunocytochemical study in the rat. *In* "Neuroendocrinology of Vasopressin, Corticoliberin and Opiomelanocortins" (A. Beartschi and J.-J. Dreifuss, Eds.) Academic Press. pp. 43-50.

12. Armstrong W E, Smith B N, Tian M. (1994). Electrophysiological characteristics of immunohistochemically identified rat oxytocin and vasopressin neurones in vitro. *J Physiol.* 475(1):115-28.
13. Armstrong W E, Warach S, Hatton G I and McNeill T H. (1980). Subnuclei in the rat hypothalamic paraventricular nucleus: A cytoarchitectural, horseradish peroxidase and immunocytochemical analysis. *Neuroscience.* 5:1931-1958.
14. Arnould E, Layton B S, Padjen A L, Renaud L P. (1983). Actions of acidic amino acids on the excitability of medial hypothalamic neurons in the rat. *Neuroendocrinology.* 37(3):184-92.
15. Barker J L, Crayton J W, Nicoll R A. (1971). Noradrenaline and acetylcholine responses of supraoptic neurosecretory cells. *J Physiol.* 218(1):19-32.
16. Beroukas D, Willoughby J O, Blessing W W. (1989). Neuropeptide Y-like immunoreactivity is present in boutons synapsing on vaso-pressin-containing neurons in rabbit supraoptic nucleus. *Neuroendocrinology.* 50:222-228.
17. Bicknell R J, Brown D, Chapman C, Hancock P D, Leng G. (1984). Reversible fatigue of stimulus-secretion coupling in the rat neurohypophysis. *J Physiol.* 348:601-13.
18. Bicknell R J, Leng G. (1981). Relative efficiency of neural firing patterns for vasopressin release in vitro. *Neuroendocrinology.* 33(5):295-9.
19. Bicknell R J, Leng G. (1982). Endogenous opiates regulate oxytocin but not vasopressin secretion from the neurohypophysis. *Nature.* 298(5870):161-2.
20. Bicknell R J, Leng G, Lincoln D W, Russell J A. (1988). Naloxone excites oxytocin neurones in the supraoptic nucleus of lactating rats after chronic morphine treatment. *J Physiol.* 396:297-317.
21. Bicknell R J, Leng G, Russell J A, Dyer R G, Mansfield S, Zhao B G. (1988). Hypothalamic opioid mechanisms controlling oxytocin neurones during parturition. *Brain Res Bull.* 20(6):743-9.
22. Bittencourt J C, Benoit R, Sawchenko P E. (1991). Distribution and origins of substance P-immunoreactive projections to the paraventricular and supraoptic nuclei: partial overlap with ascending catecholaminergic projections. *J Chem Neuroanat.* 4:63-78.
23. Blackburn R E, Leng G. (1990). Ablation of the region anterior and ventral to the third ventricle (AV3V region) in the rat does not abolish the release of oxytocin in response to systemic cholecystokinin. *Brain Res.* 508(1):156-60.

24. Blessing W W. Willoughby J O. (1985). Excitation of neuronal function in rabbit caudal ventrolateral medulla elevates plasma vasopressin. *Neurosci Lett.* 31:58(2):189-94.
25. Bloom F E. Battenberg E L. Rivier J. Vale W. (1982). Corticotropin releasing factor (CRF): immunoreactive neurones and fibers in rat hypothalamus. *Regul Pept.* 4(1):43-8.
26. Bondy C A. Gainer H. Russell J T. (1988). Dynorphin A inhibits and naloxone increases the electrically stimulated release of oxytocin but not vasopressin from the terminals of the neural lobe. *Endocrinology.* 122:1321-1327.
27. Bondy C A. Jensen R T. Brady L S and Gainer H. (1989). Cholecystokinin evokes secretion of oxytocin and vasopressin from rat neural lobe independent of external calcium. *Proceedings of America of the National Academy of Sciences of the United States.* 86:5198-5201.
28. Bosc M J. Germain G. Nicolle A. Mouren M. Philibert D. Baulieu E E. (1987). Control of birth in rats by RU 486, an antiprogesterone compound. *J Reprod Fertil.* 79(1):1-8.
29. Bourque C W. (1986). Calcium-dependent spike after-current induces burst firing in magnocellular neurosecretory cells. *Neurosci Lett.* 70(2):204-9.
30. Bourque C W. (1988). Transient calcium-dependent potassium current in magnocellular neurosecretory cells of the rat supraoptic nucleus. *J Physiol.* 397:331-47.
31. Bourque C W. (1990). Intraterminal recordings from the rat neurohypophysis in vitro. *J Physiol.* 421:247-62.
32. Bourque C W. Kirkpatrick K. Jarvis C R. (1998). Extrinsic modulation of spike afterpotentials in rat hypothalamo-neurohypophysial neurons. *Cell Mol Neurobiol.* 18(1):3-12.
33. Bourque C W. Randle J C. Renaud L P. (1985). Calcium-dependent potassium conductance in rat supraoptic nucleus neurosecretory neurons. *J Neurophysiol.* 54(6):1375-82.
34. Bourque C W. Renaud L P. (1985). Calcium-dependent action potentials in rat supraoptic neurosecretory neurones recorded in vitro. *J Physiol.* 363:419-28.
35. Bourque C W. Renaud L P. (1985). Activity dependence of action potential duration in rat supraoptic neurosecretory neurones recorded in vitro. *J Physiol.* 363:429-39.

36. Bourque C W and Richard D. (2001). Axonal projections from the organum vasculosum lamina terminalis to the supraoptic nucleus: functional analysis and presynaptic modulation. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 28(7):570-4.
37. Brethes D, Dayanithi G, Letellier L, Nordmann J J. (1987). Depolarization-induced Ca²⁺ increase in isolated neurosecretory nerve terminals measured with fura-2. *Proc Natl Acad Sci USA.* 84(5):1439-43.
38. Bridges R S. (1984). A quantitative analysis of the roles of dosage, sequence, and duration of estradiol and progesterone exposure in the regulation of maternal behavior in the rat. *Endocrinology.* 114(3):930-40.
39. Bridges R S, Ronsheim P M. (1987). Immunoreactive beta-endorphin concentrations in brain and plasma during pregnancy in rats: possible modulation by progesterone and estradiol. *Neuroendocrinology.* 45(5):381-8.
40. Broad K D, Kendrick K M, Sirinathsinghji D J, Keverne E B. (1993). Changes in oxytocin immunoreactivity and mRNA expression in the sheep brain during pregnancy, parturition and lactation and in response to oestrogen and progesterone. *J Neuroendocrinol.* 5(4):435-44.
41. Bronstein D M, Schafer M K, Watson S J, Akil H. (1992). Evidence that beta-endorphin is synthesized in cells in the nucleus tractus solitarius: detection of POMC mRNA. *Brain Res.* 587(2):269-75.
42. Brooks D P, Share L, Crofton J T. (1986). Central adrenergic control of vasopressin release. *Neuroendocrinology.* 42:416-420.
43. Brown C H, Ghamari-Langroudi M, Leng G, Bourque C W. (1999). Kappa-opioid receptor activation inhibits post-spike depolarizing after-potentials in rat supraoptic nucleus neurones in vitro. *J Neuroendocrinol.* 11(11):825-8.
44. Brown C H, Johnstone L E, Murphy N P, Leng G, Russell J A. (2000). Local injection of pertussis toxin attenuates morphine withdrawal excitation of rat supraoptic nucleus neurones. *Brain Res Bull.* 52(2):115-21.
45. Brown C H, Munro G, Johnstone L E, Robson A C, Landgraf R, Russell J A. (1997). Oxytocin neurone autoexcitation during morphine withdrawal in anaesthetized rats. *Neuroreport.* 8(4):951-5.
46. Brown C H, Murphy N P, Munro G, Ludwig M, Bull P M, Leng G, Russell J A. (1998). Interruption of central noradrenergic pathways and morphine withdrawal excitation of oxytocin neurones in the rat. *J Physiol.* 507 (Pt 3):831-42.

47. Brown C H, Russell J A, Leng G. (2000). Opioid modulation of magnocellular neurosecretory cell activity. *Neurosci Res.* 36(2):97-120.
48. Buijs R M. (1978). Intra- and extrahypothalamic vasopressin and oxytocin pathways in the rat. Pathways to the limbic system, medulla oblongata and spinal cord. *Cell Tissue Res.* 192(3):423-35.
49. Buijs R M, Geffard M, Pool C W, Hoorneman E M. (1984). The dopaminergic innervation of the supraoptic and paraventricular nucleus. A light and electron microscopical study. *Brain Res.* 323(1):65-72.
50. Buijs R M, Hou Y X, Shinn S, Renaud L P. (1994). Ultrastructural evidence for intra- and extranuclear projections of GABAergic neurons of the supraoptic nucleus. *J Comp Neurol.* 340(3):381-91.
51. Buijs R M, van Vulpen E H, Geffard M. (1987). Ultrastructural localization of GABA in the supraoptic nucleus and neural lobe. *Neuroscience.* 20(1):347-55.
52. Bunn S J, Hanley M R, Wilkin G P. (1985). Evidence for a kappa-opioid receptor on pituitary astrocytes: an autoradiographic study. *Neurosci. Lett.* 55:317-323.
53. Bunn S J, Hanley M R, Wilkin G P. (1986). Autoradiographic localization of peripheral benzodiazepine, dihydroalprenolol and arginine vasopressin binding sites in the pituitaries of control, stalk transected and Brattleboro rats. *Neuroendocrinology.* 44(1):76-83.
54. Burbach J P H, Adan R A H, Van Tol H H M, Verbeek M A E, Axelsson J F, van Leeuwen F W, Beckman J M, Ab G. (1990). Regulation of the rat oxytocin gene by estradiol. *J Neuroendocrinology.* 2:633-639.
55. Burke T F, Woods J H, Lewis J W, Medzihradsky F. (1994). Irreversible opioid antagonist effects of clocinnamox on opioid analgesia and mu receptor binding in mice. *J Pharmacol Exp Ther.* 271(2):715-21.
56. Carmichael M S, Humbert R, Dixen J, Palmisano G, Greenleaf W, Davidson J M. (1987). Plasma oxytocin increases in the human sexual response. *J Clin Endocrinol Metab.* 64(1):27-31.
57. Carter D A, Lightman S L. (1987). Modulation of oxytocin secretion by ascending noradrenergic pathways: sexual dimorphism in rats. *Brain Res.* 406(1-2):313-6.
58. Cazalis M, Dayanithi G, Nordmann J J. (1987). Hormone release from isolated nerve endings of the rat neurohypophysis. *J Physiol.* 390:55-70.

59. Cazalis M, Dayanithi G, Nordmann J J. (1987). Requirements for hormone release from permeabilized nerve endings isolated from the rat neurohypophysis. *J Physiol*. 390:71-91.
60. Ceccatelli S, Millhorn D E, Hokfelt T, Goldstein M. (1989). Evidence for the occurrence of an enkephalin-like peptide in adrenaline and noradrenaline neurons of the rat medulla oblongata. *Exp Brain Res*. 74(3):631-40.
61. Chang K J, Cooper B R, Hazum E, Cuatrecasas P. (1979). Multiple opiate receptors: different regional distribution in the brain and differential binding of opiates and opioid peptides. *Mol Pharmacol*. 16(1):91-104.
62. Chen Y, Mestek A, Liu J, Hurley J A, Yu L. (1993). Molecular-cloning and functional expression of a mu-opioid receptor from rat brain. *Mol. Pharmacol*. 44:8-12.
63. Childers S R. (1991). Opioid receptor-coupled second messenger systems. *Life Sci*. 48:1991-2003.
64. Chowdrey H S, Jessop D S, Lightman S L. (1990). Substance P stimulates arginine vasopressin and inhibits adrenocorticotropin release in vivo in the rat. *Neuroendocrinology*. 52:90-93.
65. Clarke G, Wood P, Merrick L, Lincoln D W. (1979). Opiate inhibition of peptide release from the neurohumoral terminals of hypothalamic neurones. *Nature*. 282:746-748.
66. Comer S D, Burke T F, Lewis J W, Woods J H. (1992). Cloceinnamox: a novel, systemically-active, irreversible opioid antagonist. *J Pharmacol Exp Ther*. 262(3):1051-6.
67. Corbett A D, Paterson S J, McKnight A T, Magnan J, Kosterlitz H W. (1982). Dynorphin and dynorphin are ligands for the kappa-subtype of opiate receptor. *Nature*. 299(5878):79-81.
68. Crowley R S, Insel T R, O'Keefe J A, Kim N B, Amico J A. (1995). Increased accumulation of oxytocin messenger ribonucleic acid in the hypothalamus of the female rat: induction by long term estradiol and progesterone administration and subsequent progesterone withdrawal. *Endocrinology*. 136(1):224-31.
69. Crowley W R, Armstrong W E. (1992). Neurochemical regulation of oxytocin secretion in lactation. *Endocr Rev*. 13(1):33-65.
70. Crowley W R, Shyr S W, Kacsob B, Grosvenor C E. (1987). Evidence for stimulatory noradrenergic and inhibitory dopaminergic regulation of oxytocin release in the lactating rat. *Endocrinology*. 121(1):14-20.
71. Cui L N, Inenaga K, Nagatomo T and Yamashita H. (1994). Sodium nitroprusside modulates NMDA response in the rat supraoptic neurons in vitro. *Brain Research Bulletin*. 35:253-260.

72. Cui L N, Jolley C J, Dyball R E J. (1997). Electrophysiological evidence for retinal projections to the hypothalamic supraoptic nucleus and its perinuclear zone. *J. Neuroendocrinol.* 9:347–354.
73. Cui L N, Saeb-Parsy K, Dyball R E. (1997). Neurones in the supraoptic nucleus of the rat are regulated by a projection from the suprachiasmatic nucleus. *J Physiol.* 502:149–159.
74. Cunningham E T Jr, Sawchenko P E. (1988). Anatomical specificity of noradrenergic inputs to the paraventricular and supraoptic nuclei of the rat hypothalamus. *J Comp Neurol.* 274(1):60-76.
75. Cunningham E T Jr, Sawchenko P E. (1991). Reflex control of magnocellular vasopressin and oxytocin secretion. *Trends Neurosci.* 14(9):406-11.
76. Daftary S S, Boudaba C, Szabo K, Tasker J G. (1998). Noradrenergic excitation of magnocellular neurons in the rat hypothalamic paraventricular nucleus via intranuclear glutamatergic circuits. *J Neurosci.* 18(24):10619-28.
77. Day N C, Hall M D and Hughes J. (1989). Modulation of hypothalamic cholecystokinin receptor density with changes in magnocellular activity: a quantitative autoradiographic study. *Neuroscience.* 29:371-383.
78. Day T A, Ferguson A V, Renaud L P. (1984). Facilitatory influence of noradrenergic afferents on the excitability of rat paraventricular nucleus neurosecretory cells. *J Physiol.* 355:237-49.
79. Day T A, Jhamandas J H, Renaud L P. (1985). Comparison between the actions of avian pancreatic polypeptide, neuropeptide Y and norepinephrine on the excitability of rat supraoptic vasopressin neurons. *Neurosci. Lett.* 62:181-185.
80. Day T A, Randle J C, Renaud L P. (1985). Opposing alpha- and beta-adrenergic mechanisms mediate dose-dependent actions of noradrenaline on supraoptic vasopressin neurones in vivo. *Brain Res.* 358(1-2):171-9.
81. Day T A, Renaud L P. (1984). Electrophysiological evidence that noradrenergic afferents selectively facilitate the activity of supraoptic vasopressin neurons. *Brain Res.* 303(2):233-40.
82. Day T A, Sibbald J R. (1988). Direct catecholaminergic projection from nucleus tractus solitarii to supraoptic nucleus. *Brain Res.* 54(1-2):387-92.
83. Day T A, Sibbald J R. (1989). A1 cell group mediates solitary nucleus excitation of supraoptic vasopressin cells. *Am J Physiol.* 257(5 Pt 2):R1020-6.

84. De Souza E B, Kuyatt B L. (1987). Alpha 1-adrenergic receptors in the neural lobe of the rat pituitary: autoradiographic identification and localization. *Endocrinology*. 120(6):2227-33.
85. Decavel C, Dubourg P, Leon-Henri B, Geffard M, Calas A. (1989). Simultaneous immunogold labeling of GABAergic terminals and vasopressin-containing neurons in the rat paraventricular nucleus. *Cell Tissue Res*. 255(1):77-80.
86. Decavel C, Geffard M, Calas A. (1987). Comparative study of dopamine- and noradrenaline-immunoreactive terminals in the paraventricular and supraoptic nuclei of the rat. *Neurosci Lett*. 77(2):149-54.
87. Decavel C, Van den Pol A N. (1990). GABA: a dominant neurotransmitter in the hypothalamus. *J Comp Neurol*. 302(4):1019-37.
88. Doi N, Brown C H, Cohen H D, Leng G, Russell J A. (2001). Effects of the endogenous opioid peptide, endomorphin I, on supraoptic nucleus oxytocin and vasopressin neurones in vivo and in vitro. *Br J Pharmacol*. 132(5):1136-44.
89. Doi N and Russell J A. (1998). Endomorphin I, a highly selective endogenous μ -opioid agonist, inhibits the firing of rat oxytocin (OT) but not vasopressin (VP) supraoptic nucleus (SON) neurones in vitro. *Journal of Physiology*. 505P, 11P.
90. Douglas A J, Bicknell R J, Russell J A. (1995). Pathways to parturition. *Adv Exp Med Biol*. 395:381-94.
91. Douglas A J, Clarke G, MacMillan S J, Bull P M, Neumann I, Way S A, Wright D M, McGrory B G, Russell J A. (1993). Effects of the kappa-opioid agonist U50,488 on parturition in rats. *Br J Pharmacol*. 109(1):251-8.
92. Douglas A J, Dye S, Leng G, Russell J A, Bicknell R J. (1993). Endogenous opioid regulation of oxytocin secretion through pregnancy in the rat. *J Neuroendocrinol*. 5(3):307.
93. Douglas A J, Neumann I, Meeren H K, Leng G, Johnstone L E, Munro G, Russell J A. (1995). Central endogenous opioid inhibition of supraoptic oxytocin neurons in pregnant rats. *J Neurosci*. 15(7 Pt 1):5049-57.
94. Douglas AJ, Russell JA. (1994). Corticotrophin-releasing hormone, proenkephalin A and oxytocin mRNA's in the paraventricular nucleus during pregnancy and parturition in the rat. *Gene Ther*. 1 Suppl 1:S85.

95. El Alj A, Bonoris E, Cynober E, Germain G. (1990). Heterogeneity of oxytocin receptors in the pregnant rat myometrium near parturition. *Eur J Pharmacol.* 186(2-3):231-8.
96. Evans C J, Keith D E J, Morrison H, Magendzo K, Edwards R H. (1992). Cloning of a delta opioid receptor by functional expression. *Science*:258:1952-1955.
97. Everitt B J, Hokfelt T, Terenius L, Tatemoto K, Mutt V, Goldstein M. (1984). Differential co-existence of neuropeptide Y (NPY)-like immunoreactivity with catecholamines in the central nervous system of the rat. *Neuroscience.* 11:443-462.
98. Falke N. (1988). Dynorphin (1-8) inhibits stimulated release of oxytocin but not vasopressin from isolated neurosecretory endings of the rat neurohypophysis. *Neuropeptides.* 11(4):163-7.
99. Fenelon V S, Herbison A E. (1996). Plasticity in GABA_A receptor subunit mRNA expression by hypothalamic magnocellular neurons in the adult rat. *J Neurosci.* 16(16):4872-80.
100. Fenelon V S, Sieghart W, Herbison A E. (1995). Cellular localization and differential distribution of GABA_A receptor subunit proteins and messenger RNAs within hypothalamic magnocellular neurons. *Neuroscience.* 64(4):1129-43.
101. Fisher T E, Bourque C W. (1995). Voltage-gated calcium currents in the magnocellular neurosecretory cells of the rat supraoptic nucleus. *J Physiol.* 486(3):571-80
102. Fisher T E, Bourque C W. (1995). Distinct omega-agatoxin-sensitive calcium currents in somata and axon terminals of rat supraoptic neurones. *J Physiol.* 489(2):383-8.
103. Fisher T E, Bourque C W. (1996). Calcium-channel subtypes in the somata and axon terminals of magnocellular neurosecretory cells. *Trends Neurosci.* 19(10):440-4.
104. Fochring R C, Armstrong W E. (1996). Pharmacological dissection of high-voltage-activated Ca²⁺ current types in acutely dissociated rat supraoptic magnocellular neurons. *J Neurophysiol.* 76(2):977-83.
105. Forman L J, Marquis D E, Stevens R. (1985). The effect of chronic estrogen treatment on immunoreactive beta-endorphin levels in intact female rats. *Proc Soc Exp Biol Med.* 179(3):365-72.
106. Fox S R, Harlan R E, Shivers B D, Pfaff D W. (1990). Chemical characterization of neuroendocrine targets for progesterone in the female rat brain and pituitary. *Neuroendocrinology.* 51(3):276-83.

107. Fuchs A R, Saito S. (1971). Pituitary oxytocin and vasopressin content of pregnant rats before, during and after parturition. *Endocrinology*. 88(3):574-8.
108. Fukuda K, Shoda T, Morikawa H, Kato S, Mori K. (1997). Activation of mitogen-activated protein kinase by the nociceptin receptor expressed in Chinese hamster ovary cells. *FEBS Lett*. 412:290-294.
109. Gannon R L, Terrian D M. (1991). U-50,488H inhibits dynorphin and glutamate release from guinea pig hippocampal mossy fiber terminals. *Brain Res*. 548(1-2):242-7.
110. Garfield R E, Puri C P, Csapo A I. (1982). Endocrine, structural, and functional changes in the uterus during premature labor. *Am J Obstet Gynecol*. 142(1):21-7.
111. Garten L L, Sofroniew M V, Dyball R E. (1989). A direct catecholaminergic projection from the brainstem to the neurohypophysis of the rat. *Neuroscience*. 33(1):149-55.
112. Gaymann W, Martin R. (1987). A re-examination of the localization of immunoreactive dynorphin(1-8), [Leu]enkephalin and [Met]enkephalin in the rat neurohypophysis. *Neuroscience*. 20(3):1069-80.
113. Gerstberger R, Barden N. (1986). Dynorphin 1-8 binds to opiate kappa receptors in the neurohypophysis. *Neuroendocrinology*. 42(5):376-82.
114. Gies U, Theodosis D T. (1994). Synaptic plasticity in the rat supraoptic nucleus during lactation involves GABA innervation and oxytocin neurons: a quantitative immunocytochemical analysis. *J Neurosci*. 14(5 Pt 1):2861-9.
115. Giraud P, Castanas E, Patey G, Oliver C, Rossier J. (1983). Regional distribution of methionine-enkephalin-Arg6-Phe7 in the rat brain: comparative study with the distribution of other opioid peptides. *J Neurochem*. 41(1):154-60.
116. Goldstein A, Ghazarossian V E. (1980). Immunoreactive dynorphin in pituitary and brain. *Proc Natl Acad Sci USA*. 77(10):6207-10.
117. Grudt T J, Williams J T. (1995). Opioid receptors and the regulation of ion conductances. *Rev Neurosci*. 6:279-286.
118. Hamamura M, Leng G, Emson P C, Kiyama H. (1991). Electrical activation and c-fos mRNA expression in rat neurosecretory neurones after systemic administration of cholecystokinin. *J Physiol*. 444:51-63.
119. Hammer R P Jr, Mateo A R, Bridges R S. (1992). Hormonal regulation of medial preoptic mu-opiate receptor density before and after parturition. *Neuroendocrinology*. 56(1):38-45.

120. Harlan R E, Shivers B D, Romano G J, Howells R D, Pfaff D W. (1987). Localization of preproenkephalin mRNA in the rat brain and spinal cord by in situ hybridization. *J Comp Neurol.* 258(2):159-84.
121. Hatakeyama S, Kawai Y, Ueyama T, Senba E. (1996). Nitric oxide synthase-containing magnocellular neurons of the rat hypothalamus synthesize oxytocin and vasopressin and express Fos following stress stimuli. *Journal of Chemical Neuroanatomy.* 11:243-256.
122. Hatton G I. (1990). Emerging concepts of structure-function dynamics in adult brain: The hypothalamo-neurohypophysial system. *Prog Neurobiol.* 34:437-504.
123. Hatton G I, Cobbett P and Salm A. (1985). Extranuclear axon collaterals of paraventricular neurons in the rat hypothalamus: Intracellular staining, immunocytochemistry and electrophysiology. *Brain Res Bull.* 14:123-132.
124. Hatton G I, Hutton U E, Hoblitzell E R and Armstrong W E. (1976). Morphological evidence for two populations of magnocellular elements in the rat paraventricular nucleus. *Brain Res.* 108:187-193.
125. Herbison A E, Voisin D L, Douglas A J, Chapman C. (1997). Profile of monoamine and excitatory amino acid release in rat supraoptic nucleus over parturition. *Endocrinology.* 138(1):33-40.
126. Herkenham M, Rice K C, Jacobson A E, Rothman R B. (1986). Opiate receptors in rat pituitary are confined to the neural lobe and are exclusively kappa. *Brain Res.* 382(2):365-71.
127. Higuchi T, Tadokoro Y, Honda K, Negoro H. (1986). Detailed analysis of blood oxytocin levels during suckling and parturition in the rat. *J Endocrinol.* 110(2):251-6.
128. Higuchi T, Uchida K, Honda K, Negoro H. (1987). Pelvic neurectomy abolishes the fetus-expulsion reflex and induces dystocia in the rat. *Exp Neurol.* 96(2):443-55.
129. Hoffman G E, Smith M S, Verbalis J G. (1993). c-Fos and related immediate early gene products as markers of activity in neuroendocrine systems. *Front Neuroendocrinol.* 14(3):173-213.
130. Honda K, Negoro H, Fukuoka T, Higuchi T, Uchida K. (1985). Effect of microelectrophoretically applied acetylcholine, nora-drenaline, dopamine and serotonin on the discharge of paraventricular oxytocinergic neurons in the rat. *Endocrinol Jpn.* 32:127-133.
131. Höllt V, Haarmann I, Bovermann K, Jerlicz M, Herz A. (1980). Dynorphin-related immunoreactive peptides in rat brain and pituitary. *Neurosci Lett.* 18(2):149-53.

132. Hughes J, Smith T W, Kosterlitz H W, Fothergill L A, Morgan B A, Morris H R. (1975). Identification of two related pentapeptides from the brain with potent opiate agonist activity. *Nature*. 258:577-580.
133. Inenaga K, Akamatsu N, Nagatomo T, Ueta Y, Yamashita H. (1992). Intracellular EGTA alters phasic firing of neurons in the rat supraoptic nucleus in vitro. *Neurosci Lett*. 147(2):189-92.
134. Inenaga K, Dyball R E, Okuya S, Yamashita H. (1986). Characterization of hypothalamic noradrenaline receptors in the supraoptic nucleus and periventricular region of the paraventricular nucleus of mice in vitro. *Brain Res*. 369(1-2):37-47.
135. Inenaga K, Imura H, Yanaihara N, Yamashita H. (1990). Kappa-selective opioid receptor agonists leuorphan and dynorphin inhibit supraoptic neurons in rat hypothalamic slice preparations. *J Neuroendocrinol*. 2:389-396.
136. Inenaga K, Nagatomo T, Nakao K, Yanaihara N, Yamashita H. (1994). Kappa-selective agonists decrease postsynaptic potentials and calcium components of action potentials in the supraoptic nucleus of rat hypothalamus in vitro. *Neuroscience*. 58:331-340.
137. Ito S, Iwanaga T, Yui R, Yamaguchi K, Hama H, Kamoi K, Shibata A. (1981). Presence of alpha-neoendorphin-like immunoreactivity in the posterior lobe of the pituitary gland. *Life Sci*. 29(14):1457-61.
138. Ivell R, Richter D. (1984). Structure and comparison of the oxytocin and vasopressin genes from rat. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 81(7):2006-10.
139. Iwai C, Ochiai H, Nakai Y. (1989). Electron-microscopic immuno-cytochemistry of neuropeptide Y immunoreactive innervation of vasopressin neurons in the paraventricular nucleus of the rat hypothalamus. *Acta Anat*. 136:279-284.
140. Jackson M B. (1993). Passive current flow and morphology in the terminal arborizations of the posterior pituitary. *J Neurophysiol*. 69(3):692-702.
141. Jarry H, Lookingland K J, Palmer J R, Moore K E. (1986). Neurochemical characterization of the actions of 5-amino-2,4-dihydroxy-alpha-methylphenylethylamine (5-ADMP): a selective neurotoxin to central noradrenergic neurons. *J Pharmacol Exp Ther*. 239(1):55-62.
142. Jarvis C R, Bourque C W and Renaud L P. (1992). Depolarizing action of cholecystokinin on rat supraoptic neurones in vitro. *Journal of Physiology*. 458:621-632.

143. Jhamandas J H, Harris K H, Petrov T, Jhamandas K H. (1996). Activation of nitric oxide-synthesizing neurones during precipitated morphine withdrawal. *Neuroreport*. 7(18):2843-6.
144. Jhamandas J H, Raby W, Rogers J, Buijs R M, Renaud L P. (1989). Diagonal band projection towards the hypothalamic supraoptic nucleus: light and electron microscopic observations in the rat. *J Comp Neurol*. 282(1):15-23.
145. Ji Y, Mei J, Lu S. (1998). Opposing effects of intracerebroventricularly injected norepinephrine on oxytocin and vasopressin neurons in the paraventricular nucleus of the rat. *Neurosci Lett*. 244(1):13-6.
146. Jiang Q, Wakerley J B. (1997). The milk-ejection reflex in the peri-partum rat: effects of oestradiol and progesterone on basal milk-ejection frequency and the facilitatory response to central oxytocin. *J Neuroendocrinol*. 9(1):9-16.
147. Ju G, Liu S and Tao J. (1986). Projections from the hypothalamus and its adjacent areas to the posterior pituitary in the rat. *Neuroscience*. 19:803-828.
148. Kadowaki K, Kishimoto J, Leng G and Emson PC. (1994). Up-regulation of nitric oxide synthase (NOS) gene expression together with NOS activity in the rat hypothalamo-hypophysial system after chronic salt loading: evidence of a neuromodulatory role of nitric oxide in arginine vasopressin and oxytocin secretion. *Endocrinology*. 134:1011-1017.
149. Kakidani H, Furutani Y, Takahashi H, Noda M, Morimoto Y, Hirose T, Asai M, Inayama S, Nakanishi S, Numa S. (1982). Cloning and sequence analysis of cDNA for porcine beta-neo-endorphin:dynorphin precursor. *Nature*. 298:245-249.
150. Kawano H, Daikoku S. (1988). Somatostatin-containing neuron systems in the rat hypothalamus: retrograde tracing and immunohistochemical studies. *J Comp Neurol*. 271(2):293-9.
151. Kawarabayashi T, Kobayashi M, Akahane M, Ajisawa Y. (1996). Comparison of in vitro and in vivo inhibitory effects of peptide and nonpeptide oxytocin antagonists on radioligand binding and uterine contractility of rats during pregnancy. *Am J Obstet Gynecol*. 175(5):1348-55.
152. Kendrick K, Leng G, Higuchi T. (1991). Noradrenaline, dopamine and serotonin release in the paraventricular and supraoptic nuclei of the rat in response to intravenous cholecystokinin injections *J Neuroendocrinology*. 3:139-144.
153. Khanna S, Sibbald J R, Day T A. (1993). Alpha 2-adrenoceptor modulation of A1 noradrenergic neuron input to supraoptic vasopressin cells. *Brain Res*. 613:164-167.

154. Kieffer B L, Befort K, Gaveriaux-Ruff C, Hirth C G. (1992). The delta-opioid receptor: isolation of a cDNA by expression cloning and pharmacological characterization. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 89:12048-12052.
155. Kimura T, Shoji M, Iitake K, Ota K, Matsui K, Yoshinaga K. (1984). The role of central alpha 1- and alpha 2-adrenoceptors in the regulation of vasopressin release and the cardiovascular system. *Endocrinology*. 114:1426-1432.
156. Kirkpatrick K and Bourque C W. (1996). Activity dependence and functional role of the apamin-sensitive K⁺ current in rat supraoptic neurones in vitro. *J. Physiol. (Lond.)* 494:389-398.
157. Kjaer A, Knigge U, Rouleau A, Garbarg M and Warberg J. (1994). Dehydration-induced release of vasopressin involves activation of hypothalamic histaminergic neurons. *Endocrinology*. 135:675-681.
158. Kjaer A, Larsen P J, Knigge U, Moller M and Warberg J. (1994). Histamine stimulates c-fos expression in hypothalamic vasopressin-, oxytocin- and corticotropin-releasing hormone-containing neurons. *Endocrinology*. 134:482±491.
159. Knigge K M, Joseph S A. (1982). Relationship of the central ACTH-immunoreactive opiocortin system to the supraoptic and paraventricular nuclei of the hypothalamus of the rat. *Brain Res*. 239(2):655-8.
160. Kotwica J. and Skarzynski D. (1993). Influence of oxytocin removal from the corpus luteum on secretory function and duration of the oestrous cycle in cattle. *J Reproduction & Fertility*. 97:411-417.
161. Kumar M S, Chen C L, Muther T F. (1979). Changes in the pituitary and hypothalamic content of methionine-enkephalin during the estrous cycle of rats. *Life Sci*. 25(19):1687-96.
162. Lahti R A, VonVoigtlander P F, Barsuhn C. (1982). Properties of a selective kappa agonist, U-50,488H. *Life Sciences*. 31:2257-2260.
163. Landgraf R. (1995). Intracerebrally released vasopressin and oxytocin: measurement, mechanisms and behavioural consequences. *J Neuroendocrinol*. 7(4):243-53.
164. Landgraf R, Neumann I, Schwarzberg H. (1988). Central and peripheral release of vasopressin and oxytocin in the conscious rat after osmotic stimulation. *Brain Res*. 457(2):219-25.
165. Lemos J R, Nowycky M C. (1989). Two types of calcium channels coexist in peptide-releasing vertebrate nerve terminals. *Neuron*. 2(5):1419-26.

166. Lemos J R, Wang G, Wang X, Stuenkel E L, Nordmann J J, Treisman S N. (1994). Effects of toxins on Ca²⁺ currents and peptide release from nerve terminals. *Ann N Y Acad Sci.* 710:11-29.
167. Leng G, Bicknell R J, Brown D, Bowden C, Chapman C, Russell J A. (1994). Stimulus-induced depletion of pro-enkephalins, oxytocin and vasopressin and pro-enkephalin interaction with posterior pituitary hormone release in vitro. *Neuroendocrinology.* 60(6):559-66.
168. Leng G, Brown C H, Bull P M, Brown D, Scullion S, Currie J, Blackburn-Munro R E, Feng J, Onaka T, Verbalis JG, Russell JA, Ludwig M. (2001). Responses of magnocellular neurons to osmotic stimulation involves coactivation of excitatory and inhibitory input: an experimental and theoretical analysis. *J Neurosci.* 21(17):6967-77.
169. Leng G, Brown C H, Russell J A. (1999). Physiological pathways regulating the activity of magnocellular neurosecretory cells. *Prog Neurobiol.* 57:625-655.
170. Leng G, Dyball R E. (1983). Intercommunication in the rat supraoptic nucleus. *Q J Exp Physiol.* 68(3):493-504.
171. Leng G, Luckman S M, Dyball R E, Hamamura M, Emson P C. (1993). Induction of c-fos in magnocellular neurosecretory neurons. A link between electrical activity and peptide synthesis? *Ann N Y Acad Sci.* 689:133-45.
172. Leng G, Russell J A, Grossmann R. (1989). Sensitivity of magnocellular oxytocin neurones to opioid antagonists in rats treated chronically with intracerebroventricular (i.c.v.) morphine. *Brain Res.* 484(1-2):290-6.
173. Leng G, Way S, Dyball R E. (1991). Identification of oxytocin cells in the rat supraoptic nucleus by their response to cholecystokinin injection. *Neurosci Lett.* 122(2):159-62.
174. Leng G, Yamashita H, Dyball R E, Bunting R. (1988). Electrophysiological evidence for a projection from the arcuate nucleus to the supraoptic nucleus. *Neurosci Lett.* 89(2):146-51.
175. Levin M C and Sawchenko P E. (1993). Neuropeptide co-expression in the magnocellular neurosecretory system of the female rat: evidence for differential modulation by estrogen. *Neuroscience.* 54:1001-1018.
176. Levin M C, Sawchenko P E, Howe P R, Bloom S R, Polak J M. (1987). Organization of galanin-immunoreactive inputs to the paraventricular nucleus with special reference to their relationship to catecholaminergic afferents. *J Comp Neurol.* 261:562-582.

177. Li Z, Decavel C, Hatton G I. (1995). Calbindin-D28k: role in determining intrinsically generated firing patterns in rat supraoptic neurones. *J Physiol.* 488 (Pt 3):601-8.
178. Li Z, Hatton G I. (1996). Histamine-induced prolonged depolarization in rat supraoptic neurons: G-protein-mediated, Ca²⁺-independent suppression of K⁺ leakage conductance. *Neuroscience.* 70(1):145-58.
179. Li Z, Hatton G I. (1997). Ca²⁺ release from internal stores: role in generating depolarizing afterpotentials in rat supraoptic neurones. *J Physiol.* 498 (Pt 2):339-50.
180. Lightman S L, Ninkovic M, Hunt S P, Iversen L L. (1983). Evidence for opiate receptors on pituicytes. *Nature.* 305(5931):235-7.
181. Lin S H, Miyata S, Matsunaga W, Kawarabayashi T, Nakashima T, Kiyohara T. (1998). Metabolic mapping of the brain in pregnant, parturient and lactating rats using fos immunohistochemistry. *Brain Res.* 787(2):226-36.
182. Lin S H, Miyata S, Weng W, Matsunaga W, Ichikawa J, Furuya K, Nakashima T, Kiyohara T. (1998). Comparison of the expression of two immediate early gene proteins, FosB and Fos in the rat preoptic area, hypothalamus and brainstem during pregnancy, parturition and lactation. *Neurosci Res.* 32(4):333-41.
183. Liposits Z, Kallo I, Coen C W, Paull W K, Flerko B. (1990). Ultrastructural analysis of estrogen receptor immunoreactive neurons in the medial preoptic area of the female rat brain. *Histochemistry.* 93(3):233-9.
184. Little K Y, Duncan G E, Breese G R, Stumpf W E. (1992). Beta-adrenergic receptor binding in human and rat hypothalamus. *Biol Psychiatry.* 32(6):512-22.
185. Liu Q S, Han S, Jia Y S, Ju G. (1999). Selective modulation of excitatory transmission by mu-opioid receptor activation in rat supraoptic neurons. *J Neurophysiol.* 82(6):3000-5.
186. Liu Q S, Jia Y S and Ju G. (1997). Nitric oxide inhibits neuronal activity in the supraoptic nucleus of the rat hypothalamic slices. *Brain Research Bulletin.* 43:121-125.
187. Lowry O H, Rosebrough N J, Farr A L, Randall R J. (1951). Protein measurement with the folin phenol reagent. *J Biol. Chem.* 193:265-275.
188. Luckman S M. (1992). Fos-like immunoreactivity in the brainstem of the rat following peripheral administration of cholecystokinin. *J Neuroendocrinol.* 4:149-152.

189. Luckman S M. (1995). Stimulus-specific expression of inducible transcription factors in identified oxytocin neurones. *Adv Exp Med Biol.* 395:37-48.
190. Luckman S M. (1995). Fos expression within regions of the preoptic area, hypothalamus and brainstem during pregnancy and parturition. *Brain Res.* 669(1):115-24.
191. Luckman S M. Antonijevic I. (1993). Morphine blocks the induction of fos immunoreactivity in hypothalamic magnocellular neurons at parturition, but not that induced in other brain regions. *Ann N Y Acad Sci.* 689:630-1.
192. Luckman S M. Antonijevic I. Leng G. Dye S. Douglas A J. Russell J A. Bicknell R J. (1993). The maintenance of normal parturition in the rat requires neurohypophysial oxytocin. *J Neuroendocrinol.* 5(1):7-12.
193. Luckman S M. Dyball R E. Leng G. (1994). Induction of c-fos expression in hypothalamic magnocellular neurons requires synaptic activation and not simply increased spike activity. *J Neurosci.* 14(8):4825-30.
194. Luckman S M. Hamamura M. Antonijevic I. Dye S. Leng G. (1993). Involvement of cholecystokinin receptor types in pathways controlling oxytocin secretion. *Br J Pharmacol.* 110(1):378-84.
195. Luckman S M and Larsen P J. (1997) Evidence for the involvement of histaminergic neurones in the regulation of the rat oxytocinergic system during pregnancy and parturition. *J Physiol.* 501:649-655.
196. Ludwig M. (1998). Dendritic release of vasopressin and oxytocin. *J Neuroendocrinol.* 10(12):881-95.
197. Ludwig M. Brown C H. Russell J A. Leng G. (1997). Local opioid inhibition and morphine dependence of supraoptic nucleus oxytocin neurones in the rat in vivo. *J Physiol.* 505 (Pt 1):145-52.
198. Ludwig M. Johnstone L E. Neumann I. Landgraf R and Russell J A. (1997). Direct hypertonic stimulation of the rat supraoptic nucleus increases c-fos expression in glial cells rather than magnocellular neurones. *Cell and Tissue Research.* 287:79-90.
199. Ludwig M. Leng G. (2000). GABAergic projection from the arcuate nucleus to the supraoptic nucleus in the rat. *Neurosci Lett.* 281(2-3):195-7.
200. Mansour A. Fox C A. Akil H. Watson S J. (1995). Opioid-receptor mRNA expression in the rat CNS: anatomical and functional implications. *Trends Neurosci.* 18(1):22-29.

201. Mansour A, Fox C A, Burke S, Akil H, Watson S J. (1995). Immunohistochemical localization of the cloned mu opioid receptor in the rat CNS. *J Chem Neuroanat.* 8:283-305.
202. Mansour A, Lewis M E, Khachaturian H, Akil H, Watson S J. (1986). Pharmacological and anatomical evidence of selective mu, delta, and kappa opioid receptor binding in rat brain. *Brain Res.* 399(1):69-79.
203. Martin R, Voigt K H. (1981). Enkephalins co-exist with oxytocin and vasopressin in nerve terminals of rat neurohypophysis. *Nature.* 289(5797):502-4.
204. Mason W T. (1983). Excitation by dopamine of putative oxytocinergic neurones in the rat supraoptic nucleus in vitro: evidence for two classes of continuously firing neurones. *Brain Res.* 267(1):113-21.
205. Mason W T, Cobbett P, Inenaga K, Legendre P. (1988). Ionic currents in cultured supraoptic neurons: actions of peptides and transmitters. *Brain Res Bull.* 20(6):757-64.
206. Mason W T, Leng G. (1984). Complex action potential waveform recorded from supraoptic and paraventricular neurones of the rat: evidence for sodium and calcium spike components at different membrane sites. *Exp Brain Res.* 56(1):135-43.
207. McCall R B, Humphrey S J. (1981). Evidence for a central depressor action of postsynaptic alpha 1-adrenergic receptor antagonists. *J Auton Nerv Syst.* 3(1):9-23.
208. McKellar S, Loewy A D. (1981). Organization of some brain stem afferents to the paraventricular nucleus of the hypothalamus in the rat. *Brain Res.* 217(2):351-7.
209. Meister B, Villar M J, Ceccatelli S, Hokfelt T. (1990). Localization of chemical messengers in magnocellular neurons of the hypothalamic supraoptic and paraventricular nuclei: an immunohistochemical study using experimental manipulations. *Neuroscience.* 37(3):603-33.
210. Meng F, Xie G X, Thompson R C, Mansour A, Goldstein A, Watson S J, Akil H. (1993). Cloning and pharmacological characterization of a rat kappa opioid receptor. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 90:9954-9958.
211. Mezey E, Kiss J Z. (1991). Coexpression of vasopressin and oxytocin in hypothalamic supraoptic neurons of lactating rats. *Endocrinology.* 129(4):1814-20.
212. Miller T R, Bianchi B R, Witte D G, Lin C W. (1993). Peripheral cholecystokinin type A receptors mediate oxytocin secretion in vivo. *Regul Pept.* 43(1-2):107-12.

213. Miller T R, Handelman W A, Arnold P E, McDonald K M, Molinoff P B, Schrier R W. (1979). Effect of central catecholamine depletion on the osmotic and nonosmotic stimulation of vasopressin (antidiuretic hormone) in the rat. *J Clin Invest.* 64(6):1599-607.
214. Minami M, Toya T, Katao Y, Mackawa K, Nakamura S, Onogi T, Kaneko S, Satoh M. (1993). Cloning and expression of a cDNA for the rat kappa-opioid receptor. *FEBS Lett.* 329:291-295.
215. Miselis R R. (1981). The efferent projections of the subfornical organ of the rat: a circumventricular organ within a neural network subserving water balance. *Brain Res.* 230(1-2):1-23.
216. Moos F, Freund-Mercier M J, Guerne Y, Guerne J M, Stoeckel M E, Richard P. (1984). Release of oxytocin and vasopressin by magnocellular nuclei in vitro: specific facilitatory effect of oxytocin on its own release. *J Endocrinol.* 102(1):63-72.
217. Moos F, Poulain D A, Rodriguez F, Guerne Y, Vincent J D, Richard P. (1989). Release of oxytocin within the supraoptic nucleus during the milk ejection reflex in rats. *Exp Brain Res.* 76(3):593-602.
218. Moos F, Richard P. (1979). The inhibitory role of beta-noradrenergic receptors in oxytocin release during suckling. *Brain Res.* 169(3):595-9.
219. Moos F, Richard P. (1982). Excitatory effect of dopamine on oxytocin and vasopressin reflex releases in the rat. *Brain Res.* 241(2):249-60.
220. Moos F, Richard P. (1989). Paraventricular and supraoptic bursting oxytocin cells in rat are locally regulated by oxytocin and functionally related. *J Physiol.* 408:1-18.
221. Morishige W K, Pepe G J, Rothchild I. (1973). Serum luteinizing hormone, prolactin and progesterone levels during pregnancy in the rat. *Endocrinology.* 92(5):1527-30.
222. Morris J, Chapman D B and Sokol H W. (1987). Anatomy and function of the classic vasopressin-secreting hypothalamus-neurohypophysial system. In "Vasopressin: Principles and Properties" (D. M. Gash and G. J. Boer, Eds.), Plenum Press, New York pp: 1-66.
223. Murphy M R, Seckl J R, Burton S, Checkley S A, Lightman S L. (1987). Changes in oxytocin and vasopressin secretion during sexual activity in men. *J Clin Endocrinol Metab.* 65(4):738-41.
224. Murphy N P, Onaka T, Brown C H, Leng G. (1997). The role of afferent inputs to supraoptic nucleus oxytocin neurons during naloxone-precipitated morphine withdrawal in the rat. *Neuroscience.* 80(2):567-77.

225. Müller W, Hallermann S and Swandulla D. (1999). Opioidergic Modulation of voltage-activated K⁺ currents in magnocellular neurons of the supraoptic nucleus in rat. *The Journal of Neurophysiology*. 81(4):1617-1625.
226. Nakanishi S, Inoue A, Kita T, Nakamura M, Chang A C, Cohen S N, Numa S. (1979). Nucleotide sequence of cloned cDNA for bovine corticotropin-beta-lipotropin precursor. *Nature*. 278:423-427.
227. Nakao K, Yoshimasa T, Oki S, Tanaka I, Nakai Y, Wakimasu M, Fujino M, Imura H. (1981). Presence of dynorphin-like immunoreactivity in rat pituitary gland and hypothalamus. *Regul Pept*. 2(3):201-8.
228. Neumann I, Douglas A J, Pittman Q J, Russell J A, Landgraf R. (1996) Oxytocin released within the supraoptic nucleus of the rat brain by positive feedback action is involved in parturition-related events. *J Neuroendocrinol*. 8(3):227-33.
229. Neumann I, Kochler E, Landgraf R, Summy-Long J. (1994). An oxytocin receptor antagonist infused into the supraoptic nucleus attenuates intranuclear and peripheral release of oxytocin during suckling in conscious rats. *Endocrinology*. 134(1):141-8.
230. Neumann I, Landgraf R, Takahashi Y, Pittman Q J, Russell J A. (1994). Stimulation of oxytocin release within the supraoptic nucleus and into blood by CCK-8. *Am J Physiol*. 267(6 Pt 2):R1626-31.
231. Neumann I, Pittman Q J, Landgraf R. (1995). Release of oxytocin within the supraoptic nucleus. Mechanisms, physiological significance and antisense targeting. *Adv Exp Med Biol*. 395:173-83.
232. Neumann I, Russell J A, Landgraf R. (1993). Oxytocin and vasopressin release within the supraoptic and paraventricular nuclei of pregnant, parturient and lactating rats: a microdialysis study. *Neuroscience*. 53(1):65-75.
233. Nishimori K, Young L J, Guo Q, Wang Z, Insel T R, Matzuk M M. (1996). Oxytocin is required for nursing but is not essential for parturition or reproductive behavior. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 93(21):11699-704.
234. Nissen R, Hu B, Renaud L P. (1995). Regulation of spontaneous phasic firing of rat supraoptic vasopressin neurons in vivo by glutamate receptors. *J Physiol*. 484 (Pt 2):415-24.
235. Noda M, Furutani Y, Takahashi H, Toyosato M, Hirose T, Inayama S, Nakanishi S, Numa S. (1982). Cloning and sequence analysis of cDNA for bovine adrenal preproenkephalin. *Nature*. 295:202-206.

236. Nordmann J J, Cazalis M, Dayanithi G, Castanas E, Giraud P, Legros J J, Louis F. (1986). Are opioid peptides co-localized with vasopressin or oxytocin in the neural lobe of the rat? *Cell Tissue Res.* 246(1):177-82.
237. Nyc H E, Nestler E J. (1996). Induction of chronic Fos-related antigens in rat brain by chronic morphine administration. *Mol Pharmacol.* 49(4):636-45.
238. Ogata N, Matsuo T. (1984). Pharmacological characterization of the magnocellular neuroendocrine cells of the guinea pig supraoptic nucleus in vitro. *Neuropharmacology.* 23(10):1215-8.
239. Onaka T, Luckman S M, Antonijevic I, Palmer J R, Leng G. (1995). Involvement of the noradrenergic afferents from the nucleus tractus solitarius to the supraoptic nucleus in oxytocin release after peripheral cholecystokinin octapeptide in the rat. *Neuroscience.* 66(2):403-12.
240. Onaka T, Luckman S M, Guevara-Guzman R, Ueta Y, Kendrick K, Leng G. (1995). Presynaptic actions of morphine: blockade of cholecystokinin-induced noradrenaline release in the rat supraoptic nucleus. *J Physiol.* 482 (Pt 1):69-79.
241. Ortega-Villalobos M, Garcia-Bazan M, Solano-Flores L P, Ninomiya-Alarcon J G, Guevara-Guzman R, Wayner M J. (1990). Vagus nerve afferent and efferent innervation of the rat uterus: an electrophysiological and HRP study. *Brain Res Bull.* 25(3):365-71.
242. Ozaki M, Shibuya I, Kabashima N, Isse T, Noguchi J, Ueta Y, Inoue Y, Shigematsu A, Yamashita H. (2000). Preferential potentiation by nitric oxide of spontaneous inhibitory postsynaptic currents in rat supraoptic neurones. *J Neuroendocrinol.* 12(3):273-81.
243. Panula P, Lindberg I. (1987). Enkephalins in the rat pituitary gland: immunohistochemical and biochemical observations. *Endocrinology.* 121(1):48-58.
244. Papas S, Bourque C W. (1997). Galanin inhibits continuous and phasic firing in rat hypothalamic magnocellular neurosecretory cells. *J Neurosci.* 17:6048-6056.
245. Parker S L, Crowley W R. (1992). Activation of central D-1 dopamine receptors stimulates oxytocin release in the lactating rat: evidence for involvement of the hypothalamic paraventricular and supraoptic nuclei. *Neuroendocrinology.* 56(3):385-92.
246. Parker S L, Crowley W R. (1993). Stimulation of oxytocin release in the lactating rat by central excitatory amino acid mechanisms: evidence for specific involvement of R,S-alpha-amino-3-hydroxy-5-methylisoxazole-4-propionic acid-sensitive glutamate receptors. *Endocrinology.* 133(6):2847-54.

247. Parker S L, Crowley W R. (1993). Stimulation of oxytocin release in the lactating rat by a central interaction of alpha 1-adrenergic and alpha-amino-3-hydroxy-5-methylisoxazole-4-propionic acid-sensitive excitatory amino acid mechanisms. *Endocrinology*. 133(6):2855-60.
248. Parker S L, Crowley W R. (1995). Central stimulation of oxytocin release in the lactating rat by N-methyl-D-aspartate: requirement for coactivation through non-NMDA glutamate receptors or the glycine coagonist site. *Neuroendocrinology*. 62(5):467-78.
249. Paterson S J, Robson L E, Kosterlitz H W. (1983). Classification of opioid receptors. *Br Med Bull*. 39(1):31-6.
250. Paxinos G. (1995). *The Rat Nervous System*. Academic Press Sec Edition. London, UK. Volum: 2 Pages:377-391.
251. Paxinos G, Watson C. (1986). *The Rat Brain (Stereotaxic Coordinates)*. Academic Press Inc Ltd. London.
252. Pepe G J, Rothchild I. (1974). A comparative study of serum progesterone levels in pregnancy and in various types of pseudopregnancy in the rat. *Endocrinology*. 95(1):275-9.
253. Pfaff D W, Haldar J, Chung S K. (1992). In situ hybridization for showing hormone effects on oxytocin mRNA in specific populations of hypothalamic neurons and their possible participation in multiplicative hormonal responses. *Ann N Y Acad Sci*. 652:347-56.
254. Pinnock R D. (1992). Activation of kappa-opioid receptors depresses electrically evoked excitatory postsynaptic potentials on 5-HT-sensitive neurones in the rat dorsal raphe nucleus in vitro. *Brain Res*. 583(1-2):237-46.
255. Portoghese P S, Lipkowski A W, Takemori A E. (1987). Binaltorphimine and nor-binaltorphimine, potent and selective kappa opioid receptor antagonists. *Life Sci*. 40:1287-1292.
256. Portoghese P S, Nagase H, Lipkowski A W, Larson D L, Takemori A E. (1988). Binaltorphimine-related bivalent ligands and their kappa opioid receptor antagonist selectivity. *J Med Chem*. 31(4):836-41.
257. Poulain D A, Ellendorff F, Vincent J D. (1980). Septal connections with identified oxytocin and vasopressin neurones in the supraoptic nucleus of the rat. An electrophysiological investigation. *Neuroscience*. 5(2):379-87.
258. Poulain D A, Wakerley J B. (1982). Electrophysiology of hypothalamic magnocellular neurones secreting oxytocin and vasopressin. *Neuroscience*. 7(4):773-808.

259. Pow D V, Morris J F. (1989). Dendrites of hypothalamic magnocellular neurons release neurohypophysial peptides by exocytosis. *Neuroscience*. 32(2):435-9.
260. Pumford K M, Leng G, Russell J A. (1991). Morphine actions on supraoptic oxytocin neurones in anaesthetized rats: tolerance after i.c.v. morphine infusion. *J Physiol*. 440:437-54.
261. Pumford K M, Leng G, Russell J A. (1993). Excitatory synaptic drive offsets opioid inhibition of oxytocin neurons. *Ann N Y Acad Sci*. 689:656-8.
262. Pumford K M, Leng G, Russell J A. (1993). A pertussis toxin-sensitive G protein mediates inhibition by morphine of spontaneous electrical activity of oxytocin neurones in anaesthetized rats. *Exp Brain Res*. 94(2):247-51.
263. Pumford K M, Russell J A, Leng G. (1993). Effects of the selective kappa-opioid agonist U50,488 upon the electrical activity of supraoptic neurones in morphine-tolerant and morphine-naive rats. *Exp Brain Res*. 94(2):237-46.
264. Raby W N and Renaud L P. (1989). Dorsomedial medulla stimulation activates rat supraoptic oxytocin and vasopressin neurones through different pathways. *J Physiol*. 417:279-294.
265. Raby W N, Renaud L P. (1989). Nucleus tractus solitarius innervation of supraoptic nucleus: anatomical and electrophysiological studies in the rat suggest differential innervation of oxytocin and vasopressin neurons. *Prog Brain Res*. 81:319-27.
266. Randle J C, Bourque C W, Renaud L P. (1984). Alpha-adrenergic activation of rat hypothalamic supraoptic neurons maintained in vitro. *Brain Res*. 307(1-2):374-8.
267. Randle J C, Bourque C W, Renaud L P. (1986). Alpha 1-adrenergic receptor activation depolarizes rat supraoptic neurosecretory neurons in vitro. *Am J Physiol*. 251(3 Pt 2):R569-74.
268. Randle J C, Bourque C W, Renaud L P. (1986). Serial reconstruction of Lucifer yellow-labeled supraoptic nucleus neurons in perfused rat hypothalamic explants. *Neuroscience*. 17(2):453-67.
269. Randle J C, Mazurek M, Kneifel D, Dufresne J, Renaud L P. (1986). Alpha 1-adrenergic receptor activation releases vasopressin and oxytocin from perfused rat hypothalamic explants. *Neurosci Lett*. 65(2):219-23.
270. Randle J C, Renaud L P. (1987). Actions of gamma-aminobutyric acid on rat supraoptic nucleus neurosecretory neurones in vitro. *J Physiol*. 387:629-47.

271. Rayner V C, Robinson I C, Russell J A. (1988). Chronic intracerebroventricular morphine and lactation in rats: dependence and tolerance in relation to oxytocin neurones. *J Physiol*. 396:319-47.
272. Renaud L P, Bourque C W. (1991). Neurophysiology and neuropharmacology of hypothalamic magnocellular neurons secreting vasopressin and oxytocin. *Prog Neurobiol*. 36(2):131-69.
273. Renaud L P, Tang M, McCann M J, Stricker E M, Verbalis J G. (1987). Cholecystokinin and gastric distension activate oxytocinergic cells in rat hypothalamus. *Am J Physiol*. 253(4 Pt 2):R661-5.
274. Richard D, Bourque C W. (1992). Synaptic activation of rat supraoptic neurons by osmotic stimulation of the organum vasculosum lamina terminalis. *Neuroendocrinology*. 55(5):609-11.
275. Richard D, Bourque C W. (1995). Synaptic control of rat supraoptic neurones during osmotic stimulation of the organum vasculosum lamina terminalis in vitro. *J Physiol*. 489 (Pt 2):567-77.
276. Richard P, Moos F, Freund-Mercier M J. (1991). Central effects of oxytocin. *Physiol Rev*. 71:331-370.
277. Rho J H and Swanson L W. (1989). A morphometric analysis of functionally defined subpopulations of neurons in the paraventricular nucleus of the rat with observations in the effects of colchicine. *J Neurosci*. 9:1375-1388.
278. Roberts J S. (1971). Progesterone-inhibition of oxytocin release during vaginal distention: evidence for a central site of action. *Endocrinology*. 89(5):1137-41.
279. Rosic R, Thomson E, Blumm M, Roberts L, Fink G. (1995). Oestrogen positive feedback reduces arcuate proopiomelanocortin mRNA. *J Neuroendocrinol*. 4:625-630.
280. Rossier J, Vargo T M, Minick S, Ling N, Bloom F E, Guillemin R. (1977). Regional dissociation of beta-endorphin and enkephalin contents in rat brain and pituitary. *Proc Natl Acad Sci USA*. 74(11):5162-5.
281. Rusin K I, Giovannucci D R, Stuenkel E L, Moises H C. (1997). Kappa-opioid receptor activation modulates Ca²⁺ currents and secretion in isolated neuroendocrine nerve terminals. *J Neurosci*. 17:6565-6574.
282. Russell J A, Gosden R G, Humphreys E M, Cutting R, Fitzsimons N, Johnston V, Liddle S, Scott S, Stirland J A. (1989). Interruption of parturition in rats by morphine: a result of inhibition of oxytocin secretion. *J Endocrinol*. 121(3):521-36.

283. Russell J A, Leng G. (1998). Sex, parturition and motherhood without oxytocin? *J Endocrinol.* 157(3):343-59.
284. Russell J A, Leng G, Bicknell R J. (1995). Opioid tolerance and dependence in the magnocellular oxytocin system: a physiological mechanism? *Exp Physiol.* 80(3):307-40.
285. Russell J A, Leng G, Coombes J E, Crockett S A, Douglas A J, Murray I, Way S. (1991). Pethidine (meperidine) inhibition of oxytocin secretion and action in parturient rats. *Am J Physiol.* 261(2 Pt 2):R358-68.
286. Russell J A, Neumann I, Landgraf R. (1992). Oxytocin and vasopressin release in discrete brain areas after naloxone in morphine-tolerant and -dependent anesthetized rats: push-pull perfusion study. *J Neurosci.* 12(3):1024-32.
287. Russell J A, Neumann I, Landgraf R, Douglass A J. (1994). Central oxytocin and parturition in rats. *Neuroendocrinology.* 60S1:p64.
288. Sawchenko P E, Arias C, Bittencourt J C. (1990). Inhibin beta, somatostatin, and enkephalin immunoreactivities coexist in caudal medullary neurons that project to the paraventricular nucleus of the hypothalamus. *J Comp Neurol.* 291(2):269-80.
289. Sawchenko P E, Plotsky P M, Pfeiffer S W, Cunningham E T Jr, Vaughan J, Rivier J, Vale W. (1988). Inhibin beta in central neural pathways involved in the control of oxytocin secretion. *Nature.* 334(6183):615-7.
290. Sawchenko P E, Swanson L W. (1982). The organization of noradrenergic pathways from the brainstem to the paraventricular and supraoptic nuclei in the rat. *Brain Res.* 257(3):275-325.
291. Sawchenko P E, Swanson L W. (1983). The organization of forebrain afferents to the paraventricular and supraoptic nuclei of the rat. *J Comp Neurol.* 218(2):121-44.
292. Sawchenko P E, Swanson L W, Grzanna R, Howe P R, Bloom S R, Polak J M. (1985). Colocalization of neuropeptide Y immunoreactivity in brainstem catecholaminergic neurons that project to the paraventricular nucleus of the hypothalamus. *J Comp Neurol.* 241(2):138-53.
293. Schafer M K, Day R, Ortega M R, Akil H, Watson S J. (1990). Proenkephalin messenger RNA is expressed both in the rat anterior and posterior pituitary. *Neuroendocrinology.* 51(4):444-8.

294. Schams D, Schmidt-Polex B, Kruse V A. (1979). Oxytocin determination by radioimmunoassay in cattle. I. Method and preliminary physiological data. *Acta Endocrinologica*. 92:258-270.
295. Schrier J A. (1991). Diethylstilbestrol- and pregnancy-induced changes in rat neurointermediate lobe oxytocin, arginine vasopressin, methionine enkephalin and dynorphin. *Neuroendocrinology*. 54(3):185-91.
296. Shaikh A A. (1971). Estrone and estradiol levels in the ovarian venous blood from rats during the estrous cycle and pregnancy. *Biol Reprod*. 5(3):297-307.
297. Sharman D F, Holzer P, Holzbauer M. (1982). In vitro release of endogenous catecholamines from the neural and intermediate lobe of the hypophysis. *Neuroendocrinology*. 34(3):175-9.
298. Sherman T G, Civelli O, Douglass J, Herbert E, Watson S J. (1986). Coordinate expression of hypothalamic pro-dynorphin and pro-vasopressin mRNAs with osmotic stimulation. *Neuroendocrinology*. 44(2):222-8.
299. Shioda S, Nakai Y. (1996). Direct projections from catecholaminergic neurons in the caudal ventrolateral medulla to vasopressin-containing neurons in the supraoptic nucleus: a triple-labeling electron microscope study in the rat. *Neurosci Lett*. 221:45-48.
300. Shuster S J, Riedl M, Li X, Vulchanova L, Elde R. (1999). Stimulus-dependent translocation of kappa opioid receptors to the plasma membrane. *J Neurosci*. 19(7):2658-64.
301. Sklar A H, Schrier R W. (1983). Central nervous system mediators of vasopressin release. *Physiol Rev*. 63(4):1243-80.
302. Smart D, Smith G, Lambert D G. (1995). Mu-opioids activate phospholipase C in SH-SY5Y human neuroblastoma cells via calcium-channel opening. *Biochem J*. 305:577-581.
303. Smith B N and Armstrong W E. (1990). Tuberal supraoptic neurons. I. Morphological and electrophysiological characteristics observed with intracellular recording and biocytin filling *in vitro*. *Neuroscience*. 38:469-483.
304. Sofroniew M V and Glasmann W. (1981). Golgi-like immunoperoxidase staining of hypothalamic magnocellular neurons that contain vasopressin, oxytocin or neurophysin in the rat. *Neuroscience* 6:619-643.

305. Sofroniew M V, Weindl A, Schrell U, Wetzstein R. (1981). Immunohistochemistry of vasopressin, oxytocin and neurophysin in the hypothalamus and extrahypothalamic regions of the human and primate brain. *Acta Histochem Suppl.* 24:79-95.
306. Soldo B L, Moises H C. (1998). μ -Opioid receptor activation inhibits N- and P-type Ca^{+2} channel currents in magnocellular neurones of the rat supraoptic nucleus. *J Physiol.* 513:787-804.
307. Srisawat R, Ludwig M, Bull P M, Douglas A J, Russell J A, Leng G. (2000). Nitric oxide and the oxytocin system in pregnancy. *J Neurosci.* 20(17):6721-7.
308. Stoncham M D, Everitt B J, Hansen S, Lightman S L, Todd K. (1985). Oxytocin and sexual behaviour in the male rat and rabbit. *J Endocrinol.* 107(1):97-106.
309. Summerlee A J. (1981). Extracellular recordings from oxytocin neurones during the expulsive phase of birth in unanaesthetized rats. *J Physiol.* 321:1-9.
310. Sumner B E, Coombes J E, Pumford K M, Russell J A. (1990). Opioid receptor subtypes in the supraoptic nucleus and posterior pituitary gland of morphine-tolerant rats. *Neuroscience.* 37:635-645.
311. Sumner B E, Douglas A J, Russell J A. (1992). Pregnancy alters the density of opioid binding sites in the supraoptic nucleus and posterior pituitary gland of rats. *Neurosci Lett.* 137(2):216-20.
312. Swaab D F, Pool C W, Nijveldt F J. (1975). Immunofluorescence of vasopressin and oxytocin in the rat hypothalamo-neurohypophysial system. *Neural Transm.* 36(3-4):195-215.
313. Swanson L W, Sawchenko P E. (1980). Paraventricular nucleus: a site for the integration of neuroendocrine and autonomic mechanisms. *Neuroendocrinology.* 31(6):410-7.
314. Swanson L W, Sawchenko P E and Lind R W. (1986). Regulation of multiple peptides in CRF parvocellular neurosecretory neurons: Implications for the stress response. *Prog Brain Res.* 68:169-190.
315. Theodosis D T, Paut L, Tappaz M L. (1986). Immunocytochemical analysis of the GABAergic innervation of oxytocin- and vasopressin-secreting neurons in the rat supraoptic nucleus. *Neuroscience.* 19(1):207-22.
316. Thomas A, Crowley R S, Amico J A. (1995). Effect of progesterone on hypothalamic oxytocin messenger ribonucleic acid levels in the lactating rat. *Endocrinology.* 136(10):4188-4194

317. Thompson R C, Mansour A, Akil H, Watson S J. (1993). Cloning and pharmacological characterization of a rat mu opioid receptor. *Neuron*. 11:903-913.
318. Tong Y, Zhao H F, Labrie F, Pelletier G. (1990). Regulation of proopiomelanocortin messenger ribonucleic acid content by sex steroids in the arcuate nucleus of the female rat brain. *Neurosci Lett*. 112(1):104-8.
319. Tramu G. (1983). Immunohistochemical localization of CRF in the hypothalamus of rodents. *Ann Endocrinol*. 44(1):3-7.
320. Tramu G, Croix C, Pillez A. (1983). Ability of the CRF immunoreactive neurons of the paraventricular nucleus to produce a vasopressin-like material. Immunohistochemical demonstration in adrenalectomized guinea pigs and rats. *Neuroendocrinology*. 37(6):467-9.
321. Treiser S L, Wardlaw S L. (1992). Estradiol regulation of proopiomelanocortin gene expression and peptide content in the hypothalamus. *Neuroendocrinology*. 55(2):167-73.
322. Tribollet E, Armstrong W E, Dubois-Dauphin M, Dreifuss J J. (1985). Extra-hypothalamic afferent inputs to the supraoptic nucleus area of the rat as determined by retrograde and anterograde tracing techniques. *Neuroscience*. 15(1):135-48.
323. Tribollet E, Clarke G, Dreifuss J J, Lincoln D W. (1978). The role of central adrenergic receptors in the reflex release of oxytocin. *Brain Res*. 142(1):69-84.
324. Tweedle C D, Smithson K G, Halton G I. (1989). Neurosecretory endings in the rat neurohypophysis are en passant. *Exp Neurol*. 106(1):20-6.
325. Ueda H, Nozaki M, Satoh M. (1991). Multiple opioid receptors and GTP-binding proteins. *Comp Biochem Physiol C*. 98(1):157-69.
326. Ueta Y, Kannan H, Higuchi T, Negoro H, Yamashita H. (1993). CCK-8 excites oxytocin-secreting neurons in the paraventricular nucleus in rats possible involvement of noradrenergic pathway. *Brain Res Bull*. 32(5):453-9.
327. Uvnas-Moberg K, Alster P, Hillegaart V, Ahlenius S. (1995). Suggestive evidence for a DA D3 receptor-mediated increase in the release of oxytocin in the male rat *Neuroreport*. 6(9):1338-40.
328. Van den Pol A N. (1982). The magnocellular and parvocellular paraventricular nucleus of rat: Intrinsic organization. *J Comp Neurol*. 206:317-345.

329. Van den Pol A N. (1985). Dual ultrastructural localization of two neurotransmitter-related antigens: colloidal gold-labeled neurophysin-immunoreactive supraoptic neurons receive peroxidase-labeled glutamate decarboxylase- or gold-labeled GABA-immunoreactive synapses. *J Neurosci.* 5(11):2940-54.
330. Van den Pol A N, Wuarin J P, Dudek F E. (1990). Glutamate, the dominant excitatory transmitter in neuroendocrine regulation. *Science.* 250(4985):1276-8.
331. Vandesande F, Dierickx K. (1975). Identification of the vasopressin producing and of the oxytocin producing neurons in the hypothalamic magnocellular neurosecretory system of the rat. *Cell Tissue Res.* 164(2):153-62.
332. Vandesande F, Dierickx K. (1979). The activated hypothalamic magnocellular neurosecretory system and the one neuron one neurohypophysial hormone concept. *Cell Tissue Res.* 200(1):29-33.
333. Vandesande F, Dierickx K, De Mey J. (1975). Proceedings: Immunohistochemical demonstration of the oxytocin and the vasopressin-producing neurons in the magnocellular hypothalamic neurosecretory system of the cow, the rat and the Brattleboro rat. *Ann Endocrinol.* 36(6):379-80.
334. Van Leeuwen F W, de Raay C, Swaab D F, Fisser B. (1979). Localization of oxytocin, vasopressin, somatostatin and luteinizing hormone releasing hormone in the rat neurohypophysis. *Cell Tissue Res.* 202(2):189-201.
335. Van Leeuwen F W, Pool C W, Sluiter A A. (1983). Enkephalin immunoreactivity in synaptoid elements on glial cells in the rat neural lobe. *Neuroscience.* 8(2):229-41.
336. Van Vulpen E H, Yang C R, Nissen R, Renaud L P. (1999). Hypothalamic A14 and A15 catecholamine cells provide the dopaminergic innervation to the supraoptic nucleus in rat: a combined retrograde tracer and immunohistochemical study. *Neuroscience.* 93(2):675-80.
337. Verbalis J G, McCann M J, McHale C M, Stricker E M. (1986). Oxytocin secretion in response to cholecystokinin and food: differentiation of nausea from satiety. *Science.* 232(4756):1417-9.
338. Verbalis J G, Stricker E M, Robinson A G and Hofman G E. (1991). Cholecystokinin activates c-Fos expression in hypothalamic oxytocin and corticotrophin-releasing hormone neurons. *Journal of Neuroendocrinology.* 3:205-213.
339. Wakerley J B, Ingram C D. (1993). Synchronisation of bursting in hypothalamic oxytocin neurones: possible coordinating mechanisms. *NIPS.* 8:129-133.

340. Wakerley J B, Lincoln D W. (1973). The milk-ejection reflex of the rat: a 20- to 40-fold acceleration in the firing of paraventricular neurones during oxytocin release. *J Endocrinol.* 57(3):477-93.
341. Wakerley J B, Noble R, Clarke G. (1983). Effects of morphine and D-Ala, D-Leu enkephalin on the electrical activity of supraoptic neurosecretory cells in vitro. *Neuroscience.* 10(1):73-81.
342. Wakerley J B, Poulain D A, Brown D. (1978). Comparison of firing patterns in oxytocin- and vasopressin-releasing neurones during progressive dehydration. *Brain Res.* 148(2):425-40.
343. Wammack R, Racke K. (1988). Endogenous opioid inhibition of the release of oxytocin from the isolated rat neurohypophysis during high-frequency stimulation of the pituitary stalk. *Neurosci Lett.* 92(1):114-8.
344. Wang Y F, Shibuya I, Kabashima N, Setiadjji V S, Isse T, Ueta Y, Yamashita H. (1998). Inhibition of spontaneous inhibitory postsynaptic currents (IPSC) by noradrenaline in rat supraoptic neurons through presynaptic alpha2-adrenoceptors. *Brain Res.* 807(1-2):61-9.
345. Wardlaw S L, Frantz A G. (1983). Brain beta-endorphin during pregnancy, parturition, and the postpartum period. *Endocrinology.* 113(5):1664-8.
346. Wardlaw S L, Thoron L, Frantz A G. (1982). Effects of sex steroids on brain beta-endorphin. *Brain Res.* 245(2):327-31.
347. Wardlaw S L, Wang P J, Frantz A G. (1985). Regulation of beta-endorphin and ACTH in brain by estradiol. *Life Sci.* 37(20):1941-7.
348. Watson S J, Akil H, Fischli W, Goldstein A, Zimmerman E, Nilaver G, van wimersma Griedanus T B. (1982). Dynorphin and vasopressin: common localization in magnocellular neurons. *Science.* 216(4541):85-7.
349. Way S A, Douglas A J, Dye S, Bicknell R J, Leng G, Russell J A. (1993). Endogenous opioid regulation of oxytocin release during parturition is reduced in ovariectomized rats. *J Endocrinol.* 138(1):13-22.
350. Weber E, Evans C J, Barchas J D. (1982). Mapping of hypothalamic opioid peptide neurons by a novel immunohistochemical technique: relation to alpha-Neo-endorphin and vasopressin systems. *Adv Biochem Psychopharmacol.* 33:519-26.
351. Weiss M L, Hatton G I. (1990). Collateral input to the paraventricular and supraoptic nuclei in rat. I. Afferents from the subfornical organ and the anteroventral third ventricle region. *Brain Res Bull.* 24(2):231-8.

352. Weiss M L, Hatton G I. (1990). Collateral input to the paraventricular and supraoptic nuclei in rat. II. Afferents from the ventral lateral medulla and nucleus tractus solitarius. *Brain Res Bull.* 25(4):561-7.
353. Whitnall M H, Gainer H, Cox B M, Molincaux C J. (1983). Dynorphin-A-(1-8) is contained within vasopressin neurosecretory vesicles in rat pituitary. *Science.* 222(4628):1137-9.
354. Wilcox J N, Roberts J L. (1985). Estrogen decreases rat hypothalamic proopiomelanocortin messenger ribonucleic acid levels. *Endocrinology.* 117(6):2392-6.
355. Windle R J, Luckman S M, Stoughton R P, Forsling M L. (1996). The effect of pinealectomy on osmotically stimulated vasopressin and oxytocin release and Fos protein production within the hypothalamus of the rat. *J Neuroendocrinol.* 8(10):747-53.
356. Wise P M, Scarbrough K, Weiland N G, Larson G H. (1990). Diurnal pattern of proopiomelanocortin gene expression in the arcuate nucleus of proestrous, ovariectomized, and steroid-treated rats: a possible role in cyclic luteinizing hormone secretion. *Mol Endocrinol.* 4(6):886-92.
357. Wuarin J P, Dudek F E. (1990). Direct effects of an opioid peptide selective for mu-receptors: intracellular recordings in the paraventricular and supraoptic nuclei of the guinea-pig. *Neuroscience.* 36(2):291-8.
358. Yamashita H, Inenaga K, Dyball R E. (1988). Thermal, osmotic and chemical modulation of neural activity in the paraventricular nucleus: in vitro studies. *Brain Res Bull.* 20(6):825-9.
359. Yamashita H, Inenaga K, Kannan H. (1987). Depolarizing effect of noradrenaline on neurons of the rat supraoptic nucleus in vitro. *Brain Res.* 405(2):348-52.
360. Yamashita H, Inenaga K, Kawata M, Sano Y. (1983). Phasically firing neurons in the supraoptic nucleus of the rat hypothalamus: immunocytochemical and electrophysiological studies. *Neurosci Lett.* 37(1):87-92.
361. Yang C R, Bourque C W, Renaud L P. (1991). Dopamine D2 receptor activation depolarizes rat supraoptic neurones in hypothalamic explants. *J Physiol.* 443:405-19.
362. Yang Q Z, Hatton G I. (1994). Histamine mediates fast synaptic inhibition of rat supraoptic oxytocin neurons via chloride conductance activation. *Neuroscience.* 61(4):955-64.
363. Yang Q Z, Hatton G I. (1999). Nitric oxide via cGMP-dependent mechanisms increases dye coupling and excitability of rat supraoptic nucleus neurons. *J Neurosci.* 19(11):4270-9.

364. Yilmaz B, Gilmore D P, Wilson C A. (1996). Inhibition of the pre-ovulatory LH surge in the rat by central noradrenergic mediation: involvement of an anaesthetic (urethane) and opioid receptor agonists. *Biogenic Amines*. 12:423-435.
365. Young W S, Shepard E, Amico J, Hennighausen L, Wagner K U, LaMarca M E, McKinney C, Ginns E I. (1996). Deficiency in mouse oxytocin prevents milk ejection, but not fertility or parturition. *J Neuroendocrinol*. 8(11):847-53.
366. Zadina J E, Hackler L, Ge L J, Kastin A J. (1997). A potent and selective endogenous agonist for the mu-opiate receptor. *Nature*. 386(6624):499-502.
367. Zelena D, Kiem D T, Barna I, and Makara G B. (1999). Alpha 2-adrenoreceptor subtypes regulate ACTH and beta-endorphin secretions during stress in the rat. *Psychoneuroendocrinol*. 24:333-343.
368. Zhao B G, Chapman C, Bicknell R J. (1988). Functional kappa-opioid receptors on oxytocin and vasopressin nerve terminals isolated from the rat neurohypophysis. *Brain Res*. 462(1):62-6.
369. Zhao B G, Chapman C, Bicknell R J. (1988). Opioid-noradrenergic interactions in the neurohypophysis. I. Differential opioid receptor regulation of oxytocin, vasopressin, and noradrenaline release. *Neuroendocrinology*. 48(1):16-24.
370. Zhao B G, Chapman C, Brown D, Bicknell R J. (1988). Opioid-noradrenergic interactions in the neurohypophysis. II. Does noradrenaline mediate the actions of endogenous opioids on oxytocin and vasopressin release? *Neuroendocrinology*. 48(1):25-31.

8. ÖZGEÇMİŞ

Konya İli Beyşehir İlçesi Üzümlü Kasabası'nda 02.09.1969 tarihinde doğdum. 1981'de Üzümlü Cengiz Topel İlkokulu, 1984'de Konya Mevlana Ortaokulu, 1987'de Konya Gazi Lisesi ve 1993'de Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi'nden mezun oldum. 1994-1996 yılları arasında Konya ve Elazığ Devlet Hastanesi'nde pratisyen hekim olarak görev yaptım. 1996 yılı bahar döneminde Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıp Fizyoloji Doktora Programı'na başladım. 1997 yılında Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı'na araştırma görevlisi olarak atandım. Halen bu göreve devam etmekteyim.

