



**PARASETAMOLÜN ANTİPİRETİK ETKİ
MEKANİZMASINDA SANTRAL 5- HT₇
RESEPTÖRLERİNİN MUHTEMEL ROLLERİNİN
FARELERDE LPS İLE İNDÜKLENMİŞ HİPERTERMİ
MODELİNDE İNCELENMESİ**

Duygu KÖSE
Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı

Tez Danışmanı
Prof. Dr. Zekai HALICI

Doktora Tezi – 2018

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

**PARASETAMOLÜN ANTİİPRETİK ETKİ
MEKANİZMASINDA SANTRAL 5-HT₇
RESEPTÖRLERİNİN MUHTEMEL ROLLERİNİN
FARELERDE LPS İLE İNDÜKLENMİŞ HİPERTERMİ
MODELİNDE İNCELENMESİ**

Duygu KÖSE

Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı

Doktora Tezi

**Tez Danışmanı
Prof. Dr. Zekai HALICI**

ERZURUM

2018

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

PARASETAMOLÜN ANTİPİRETİK ETKİ MEKANİZMASINDA
SANTRAL 5-HT₇ RESEPTÖRLERİNİN MUHTEMEL
ROLLERİNİN FARELERDE LPS İLE İNDÜKLENMİŞ
HİPERTERMİ MODELİNDE İNCELENMESİ

Duygu KÖSE

Tez Savunma Tarihi : 16.03.2018

Tez Danışmanı : Prof. Dr. Zekai HALICI (Atatürk Üniversitesi)

Jüri Üyesi : Prof. Dr. Ahmet HACİMÜFTÜOĞLU (Atatürk Üniversitesi)

Jüri Üyesi : Doç. Dr. Beyzagül POLAT (Atatürk Üniversitesi)

Jüri Üyesi : Yrd. Doç. Dr. Damla ÇETİN (Kafkas Üniversitesi)

Jüri Üyesi : Yrd. Doç. Dr. Muhammed YAYLA (Kafkas Üniversitesi)

Onay

Bu çalışma yukarıdaki jüri tarafından **Doktora Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Duygu ARIKAN
Enstitü Müdürü

Doktora Tezi
ERZURUM - 2018

İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER	I
TEŞEKKÜR	IV
ÖZET	VIII
ABSTRACT	IX
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	X
ŞEKİLLER DİZİNİ	XII
TABLolar DİZİNİ	XV
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Isı Regülasyonu.....	4
2.1.1. Isı Regülasyon Merkezi	4
2.1.2. Isı Regülasyon Mekanizmaları	4
2.2. Ateş	9
2.2.1. Ateş Tanımı.....	9
2.2.2. Ateş Patofizyolojisi.....	11
2.2.3. Ateş fizyopatolojisinde rol oynayan sitokinler	12
2.2.4. Ateşin Yararları.....	14
2.2.5. Ateşin Zararları	15
2.2.6. Ateş Etiyolojisi.....	16
2.2.7. Ateş Türleri	19
2.2.8. Ateş Ölçüm Yöntemleri	20
2.2.9. Lipopolisakkarit (LPS) ile oluşturulan ateş modeli	21
2.3. Parasetamol	21
2.3.1. Parasetamolün Farmakolojik Özellikleri	22

2.3.2. Parasetamolün Farmakokinetiği ve Metabolizması	23
2.3.3.Parasetamolün Antipiretik Etki Mekanizması	24
2.4. Serotonin	26
2.4.1. Serotonin Reseptörleri	28
2.4.2. 5-HTR ₇ Reseptörü.....	30
2.4.3. 5-HTR ₇ Agonist ve Antagonistleri	31
3. MATERYAL VE METOT.....	33
3.1. Materyal	33
3.1.1 Çalışmada Kullanılan Deney Hayvanları	33
3.1.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler	33
3.1.3. Kullanılan Alet ve Cihazlar	35
3.2. Metod	35
3.2.1.Deney Planı.....	35
3.2.2. Ateş Ölçümü	37
3.2.3. Moleküler Çalışmalar	38
3.2.4. Real Time PCR	38
3.3. İstatistiksel Analiz Değerlendirmeleri	40
4. BULGULAR.....	41
4.1. Ateş	41
4.1.1. Rektal Ateş Ölçümleri	41
4.2. Moleküler Bulgular.....	56
5.TARTIŞMA.....	66
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	73
KAYNAKLAR	74
EKLER	90

EK-1.ÖZGEÇMİŞ	90
EK-2.ETİK KURULU ONAY FORMU	91



TEŞEKKÜR

Doktora eğitimime başlamama sebep olan ve doktora süreci boyunca ilham kaynağı olan, çalışma süresince her zaman yol gösteren, tez konumun seçilmesinde ve çalışmamın her aşamasında çalışmamı bilgi ve tecrübeleri ile destekleyen ve hiçbir yardımı esirgemeyen danışman hocam Prof. Dr. Zekai HALICI'ya sonsuz teşekkür ve saygılarımı sunuyorum.

Doktora eğitimime katkıda bulunan başta Anabilim Dalı Başkanımız sayın Prof. Dr. Ahmet HACİMÜFTÜOĞLU ve akabinde tüm değerli hocalarıma teşekkürlerimi sunarım. Laboratuvar çalışmalarında ve tez yazımında her türlü desteklerinden dolayı hocalarımız Doç. Dr. Erol AKPINAR'a, Prof. Dr. Elif ÇADIRCI'ya, Doç. Dr. Abdülmecit ALBAYRAK'a, Doç. Dr. Beyzagül POLAT ve Prof. Dr. Yasin Bayır'a teşekkürlerimi sunuyorum. Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı'nda görev yapmakta olan çalışma sırasında desteklerini esirgemeyen asistan arkadaşlarımdan Büşra DİYARBAKIR'a, Büşra BAŞOĞLU ve Zerrin KUTLU'ya özellikle teşekkürlerimi sunuyorum. Ayrıca emeklerini ödeyemeyeceğim rahmetli babama, anneme ve aileme sonsuz teşekkür ederim. Varlığıyla her zaman yanımda olan eşime ve çocuklarıma göstermiş oldukları sabır ve destekten dolayı sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum.

Finansal olarak bu tezin tamamlanmasında desteği bulunan TÜBİTAK'a (proje no:112S627) teşekkürlerimi sunuyorum

Duygu KÖSE

ÖZET

Parasetamolün Antipiretik Etki Mekanizmasında Santral 5-HT₇ Reseptörlerinin Muhtemel Rollerinin Farelerde LPS İle İndüklenmiş Hipertermi Modelinde İncelenmesi

Amaç: Çalışmamızda, serotonin 7 reseptörlerinin (5-HTR₇)'nin ateş mekanizmasındaki rolünü ve parasetamolün antipiretik etkisinin 5-HTR₇ üzerindeki olası etkisini incelemeyi amaç edindik.

Materyal ve Metot: Çalışma 8 deney grubu ve bir kontrol grubu olmak üzere 9 gruptan oluşturuldu. Grup **I:** SAĞLIKLI, **II:** LİPOLİSAKKARİT (LPS), **III:** LPS+PARASETAMOL (PARA), **IV:** LPS+AGONİST (AGO), **V:** LPS+ANTAGONİST (ANTA), **VI:** LPS+AGO+ANTA, **VII:** LPS+AGO+PARA, **VIII:** LPS+ANTA+PARA, **IX:** LPS+AGO+ANTA+PARA. Rektal termometre ile farelerde rektal sıcaklık ölçüldü. Deney sonunda alınan hipotalamus dokuları moleküler olarak incelendi.

Bulgular: Rektal sıcaklık ortalama farkları SAĞLIKLI gruba göre LPS, LPS+ANTA ve LPS+AGO+ANTA grubunda artarken; LPS+PARA, LPS+AGO, LPS+AGO+PARA ve LPS+AGO+ANTA+PARA gruplarında düşmüştür. 2. ve 4.saat interlökin 6 (IL-6) ve tümör nekrotizan faktör alfa (TNF- α) gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (RT-PCR) ekspresyon sonuçları değerlendirildiğinde; LPS, LPS+ANTA ve LPS+AGO+ANTA gruplarında SAĞLIKLI gruba göre artış görülürken; LPS+PARA, LPS+AGO, LPS+AGO+PARA ve LPS+AGO+ANTA+PARA gruplarında LPS grubuna göre düşüş görülmüştür. 2. ve 4.saat 5-HTR₇ RT-PCR ekspresyonu seviyeleri incelendiğinde LPS grubunda SAĞLIKLI gruba göre artış görülürken; LPS+AGO ve LPS+AGO+PARA gruplarında LPS grubuna göre düşüş görülmüş; LPS+ANTA ve LPS+ANTA+PARA gruplarında ise LPS grubuna göre artış görülmüştür

Sonuç: 5-HTR₇ nin ateşin durdurulmasında bir savunma mekanizması olduğu düşünüldü. Parasetamolün antipiretik özelliğinin 5-HTR₇ üzerinden kaynaklanmadığı sonucuna varıldı.

Anahtar Kelimeler: 5-HTR₇, hipotalamus, ateş, parasetamol

ABSTRACT

The Investigation of Possible Roles of Central 5-HT₇ Receptors in Antipyretic Effect Mechanism of Paracetamol in LPS -Induced Hyperthermia Model of Mice

Aim: In our study, we aimed to investigate the role of serotonin 7 receptor (5-HT₇) in fever mechanism and possible antipyretic effect of paracetamol on 5-HT₇ receptors .

Material and Method: The study consisted of eight experimental groups and one control group. Group **I:** HEALTHY, **II:** LIPOPOLYSACCHARIDE (LPS), **III:** LPS+PARACETAMOL (PARA), **IV:** LPS+AGONIST (AGO), **V:** LPS+ANTAGONIST (ANTA), **VI:** LPS+AGO+ANTA, **VII:** LPS+AGO+PARA, **VIII:** LPS+ANTA+PARA, **IX:** LPS+AGO+ANTA+PARA. Rectal temperature was measured with rectal thermometer. At the end of the experiment, the hypothalamus tissues were examined molecularly.

Results: Rectal temperature mean differences increased in LPS, LPS+ANTA, LPS+AGO+ANTA groups according to HEALTHY group; and decreased in LPS+PARA, LPS+AGO, LPS+AGO+PARA, LPS+AGO+ANTA+PARA groups . When interleukin 6 (IL-6) and tumor necrotizing factor alpha (TNF- α) real time polymerase chain reaction (RT-PCR) expression results were evaluated in 2 and 4th hours, increased in LPS, LPS+ANTA and LPS+AGO+ANTA group compared to HEALTHY group; LPS+PARA, LPS+AGO, LPS+AGO+PARA and LPS+AGO+ANTA+PARA groups showed a decrease compared to the LPS group. When the levels of RT-PCR 5-HT₇ expression in the hypothalamus tissue samples taken at the 2nd hour are examined, there is an increase in the LPS group compared to the HEALTHY group, LPS+AGO and LPS+AGO+PARA groups showed a decrease compared to the LPS group and there was an increase in LPS+ANTA and LPS+ANTA+PARA compared to LPS group.

Conclusion: 5-HT₇ was thought to be a defense mechanism in stopping fever. It concluded that the antipyretic property of paracetamol is not due to 5-HT₇.

Key Words: 5-HT₇, hypothalamus, fever, paracetamol

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

APAP	: Asetaminofen, n-asetil-p-aminofenol
AGO	: Agonist
ANTA	: Antagonist
C	: Santigrad
°C	: Santigrad derece
C3a	: Kompleman 3a
C5a	: Kompleman 5a
c-AMP	: Siklik adenzin monofosfat
COX	: Siklooksijenaz enzimi
COX-1	: Siklooksijenaz enzimi-1
COX-2	: Siklooksijenaz enzimi-2
COX-3	: Siklooksijenaz enzimi 3
cDNA	: Komplementer deoksiribonükleik asit (Complementary deoxyribonucleic acid)
DMSO	: Dimetil sülfoksit
DNA	: Deoksiribo nükleik asit
EP	: Endojen pirojen
F	: Fahrenheit
Fe	: Demir
GABA	: Gamma-aminobutirik asit
Gs	: Stimulatör G proteinleri
GM-CSF	: Granülosit-monosit koloni stimulan faktör
gr	: Gram
5-HİAA	: 5-Hidroksi-indol-asetik asit

5-HT	: 5-Hidroksitriptamin (serotonin)
5-HTR	: 5-HT reseptörleri
IFN	: İnterferon
IL	: İnterlökin
İV	: İntravenöz
iNOS	: İndüklenebilir nitrik oksit sentaz
ip	: İnterperitoneal
kg	: Kilogram
LPS	: Lipopolisakkarit
mRNA	: Mesajcı Ribonükleik asit
µg	: Mikrogram
ml	: Mililitre
NAPQI	: N-asetil-p-benzokinonimin
NO	: Nitrik oksit
NMDA	: N-metil-d-aspartik asit
NSAI	: Nonsteroid antiinflamatuar
PARA	: Parasetamol
PG	: Prostaglandin
RNA	: Ribonükleik asit
RT-PCR	: Gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (Real time polimerase chain reaction)
REM	: Rapid eye movement
SSS	: Santral sinir sistemi
TSH	: Tiroid stimulan hormon
TPH	: Triptofan hidroksilaz
TNF	: Tümör nekrotizan faktör

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Sekil No</u>	<u>Sayfa No</u>
Şekil 2.1. Parasetamolün yapısı.....	22
Şekil 2.2. Serotonin metabolizması.....	27
Şekil 4.1.1. SAĞLIKLI gruptaki farelerde 0-240 dk arası rektal vücut sıcaklık farkı ölçüm sonuçları ortalaması.....	41
Şekil 4.1.2. LPS grubundaki farelerde 0-240 dk arası rektal vücut sıcaklık farkı ölçüm sonuçları ortalaması.....	42
Şekil 4.1.3. LPS+PARA grubundaki farelerde 0-240 dk arası rektal vücut sıcaklık farkı ölçüm sonuçları ortalaması.....	42
Şekil 4.1.4. LPS+AGO grubundaki farelerde 0-240 dk arası rektal vücut sıcaklık farkı ölçüm sonuçları ortalaması.....	43
Şekil 4.1.5. LPS+ANTA grubundaki farelerde 0-240 dk arası rektal vücut sıcaklık farkı ölçüm sonuçları ortalaması.....	44
Şekil 4.1.6. LPS+AGO+ANTA grubundaki farelerde 0-240 dk arası rektal vücut sıcaklık farkı ölçüm sonuçları ortalaması.....	44
Şekil 4.1.7. LPS+AGO+PARA grubundaki farelerde 0-240 dk arası rektal vücut sıcaklık farkı ölçüm sonuçları ortalaması.....	45
Şekil 4.1.8 LPS+ANTA+PARA grubundaki farelerde 0-240 dk arası rektal vücut sıcaklık farkı ölçüm sonuçları ortalaması.....	46
Şekil 4.1.9. LPS+AGO+ANTA+PARA grubundaki farelerde 0-240 dk arası rektal vücut sıcaklık farkı ölçüm sonuçları ortalaması.....	47

Şekil 4.1.10.	Bütün gruplarda 30.dk ölçülen rektal sıcaklık farkı ortalamaları.....	48
Şekil 4.1.11.	Bütün gruplarda 60.dk ölçülen rektal sıcaklık farkı ortalamaları.....	49
Şekil 4.1.12.	Bütün gruplarda 90.dk ölçülen rektal sıcaklık farkı ortalamaları.....	50
Şekil 4.1.13.	Bütün gruplarda 120.dk ölçülen rektal sıcaklık farkı ortalamaları.....	51
Şekil 4.1.14.	Bütün gruplarda 150.dk ölçülen rektal sıcaklık farkı ortalamaları.....	52
Şekil 4.1.15.	Bütün gruplarda 180.dk ölçülen rektal sıcaklık farkı ortalamaları.....	53
Şekil 4.1.16.	Bütün gruplarda 210.dk ölçülen rektal sıcaklık farkı ortalamaları.....	54
Şekil 4.1.17.	Bütün gruplarda 240.dk ölçülen rektal sıcaklık farkı ortalamaları.....	55
Şekil 4.2.	Farelerde 2.saatte alınan hipotalamus doku örneklerindeki IL-6 mRNA seviyeleri.....	56
Şekil 4.3.	Farelerde 4.saatte alınan hipotalamus doku örneklerindeki IL-6 mRNA seviyeleri.....	57
Şekil 4.4.	Farelerde 2.saatte alınan hipotalamus doku örneklerindeki TNF- α mRNA seviyeleri.....	58
Şekil 4.5.	Farelerde 4.saatte alınan hipotalamus doku örneklerindeki TNF- α mRNA seviyeleri.....	59
Şekil 4.6.	Farelerde 2.saatte alınan hipotalamus doku örneklerindeki 5 HTR7 mRNA seviyeleri.....	60
Şekil 4.7.	Farelerde 4.saatte alınan hipotalamus doku örneklerindeki 5 HTR7 mRNA seviyeleri.....	61

Şekil 4.8. Farelerde 2.saatte alınan hipotalamus doku örneklerindeki NMDA-2A mRNA seviyeleri.....	62
Şekil 4.9. Farelerde 4.saatte alınan hipotalamus doku örneklerindeki NMDA-2A mRNA seviyeleri.....	63
Şekil 4.10. Farelerde 2.saatte alınan hipotalamus doku örneklerindeki NMDA-2B mRNA seviyeleri.....	64
Şekil 4.11. Farelerde 4.saatte alınan hipotalamus doku örneklerindeki NMDA-2B mRNA seviyeleri.....	65

TABLULAR DİZİNİ

<u>Tablo No</u>	<u>Sayfa No</u>
Tablo 2.1. Hipertermi nedenleri.....	8
Tablo 2.2 . Ölçüm bölgesine göre en düşük ateş değerleri.....	10
Tablo 2.3. Ateş türleri.....	11
Tablo 2.4. Ekzojen pirojenler.....	14
Tablo 2.5. Endojen pirojenler (pirojen sitokinler).....	14
Tablo 2.6. Ateşe neden olan hastalık grupları	17

1.GİRİŞ

Normal vücut ısısı ön hipotalamusta bulunan ısı düzenleme merkezi tarafından kontrol edilir ve gün içerisinde değişiklik gösterir. İnsan vücudunun normal sıcaklığı 36-37.5 °C (axiller) civarındadır. Vücut sıcaklığının normal değerlerin üzerine çıkmasına ateş denir. Ölçülen sıcaklığın olması gerekenden 1 °C fazla olmasıdır. Ölçülen sıcaklığın 38⁰ C ve üzerinde ölçülmesi yine ateş olarak tariflenir.

Parasetamol, tüm yaş gruplarında orta düzeyde ağrının ve ateşin tedavisinde etkin, güvenli ve ucuz olduğundan dünyada en çok kullanılan ilaçlar arasındadır. Özellikle beyinde COX-1 ve COX-2 dışındaki siklooksijenazları (COX-3) inhibe etmesinin santral analjezik ve antipiretik etkisinde rol oynadığı kabul edilmiştir. Parasetamol, aynı gruptaki diğer analjezik ilaçlardan farklıdır ve omurilik ile hipotalamusun arka boynuzlarında peroksidlerin az olması nedeniyle prostaglandin sentez ve salınımını azaltarak analjezik ve antipiretik etki gösterir. Parasetamol için belirtilen potansiyel mekanizmalar arasında; COX inhibisyonu¹, endojen opioidlerjik sistemle etkileşim², L-arjinin/ NO yolağının etkisi, P maddesi veya NMDA aracılı etkisi³, parasetamolün aktif olan metabolitlerinin beyinde yer alan kanabinoid ve vaniloid reseptörlerine olan etkisi, inen inhibitör serotoninin yolağına olan etkisi⁴ sayılabilir⁵⁻⁷. Yapılan radyoligand çalışmalarında parasetamolün serotonerjik yollardaki etkisinin indirekt olabileceği konusunda görüşler vardır⁸. Bu çalışmalarda sıçan recombinant 293 HEK hücrelerinde parasetamolün serotonin reseptörlerine doğrudan bağlanmadığı görülmüştür⁸. Bu yüzden parasetamolün serotonerjik yollar üzerindeki etkisinin indirekt olduğu düşünülmektedir⁸.

Serotonin, diğer adıyla 5-hidroksitriptaminin (5-HT), kimyasal formülü C₁₀H₁₂N₂O'dur. İnsan vücudunda toplam 10 mg kadar 5-HT bulunduğu bunun %95'inin mide ve barsak mukozası enterokromafin hücrelerinde, daha az oranda ise oradaki enterik mast hücrelerinde ve serotonerjik nöronlarda olduğu tespit edilmiştir. Yine mide-barsak

çeperindeki enterik sinir sistemini oluşturan myenterik plexus ve submukozal plexustaki nöronların bir kısmı serotonerjik nöronlardır. Mide-barsak dışında kalan 5-HT'nin büyük kısmı ise kanda trombositler içinde ve SSS'de bulunur⁹. Serotonin depresyon, kaygı bozukluğu, sosyal fobi, şizofreni hastalığı, saplantı-zorlantı bozukluğu, panik atak, migren hastalığı, yüksek tansiyon, pulmoner hipertansiyon, yeme bozuklukları, kusma, irritabl barsak sendromu benzeri hastalıklardan sorumlu tutulmuştur¹⁰. Ayrıca kardiyovasküler regülasyonda, ısı düzenlenmesinde, uyku-uyanma sirkülasyonunda, beslenme, saldırganlık, seksüel tavır, öğrenme gibi durumlarda etkileri araştırılmaktadır¹¹.

Serotonin maddesi, kanda çok hızlı yıkılması nedeniyle dışarıdan ilaç olarak verilebilen bir madde değildir ve serotonin benzeri etki oluşturulmak istendiğinde agonist ve antagonistleri aracılığı ile oluşturulur. Farmakolojik, elektrofizyolojik, deoksiribonükleik asit (DNA) klonlaması, radyoligand bağlama gibi yeni deneysel yöntemlerin denenmesi ile serotonin reseptörlerinin 5-HTR₇ tipi ve bazı grupların da alttipleri tanımlanmıştır^{12, 13}. Santral sinir sistemi ve periferik dokulardan eksprese edilir. Santral sinir sisteminde talamus, hipotalamus (suprakiazmatik nükleus dâhil), serebral korteks (piramidal ve GABAerjik nöronlarda), amigdala ve dorsal raphede bulunduğu gösterilmiştir^{14, 15}. Yine yapılan çeşitli radyoligand ve otoradyografi çalışmalarında 5-HTR₇ reseptörü beyinde kortikal bölge, striatum, talamus, hipokampus, amigdala, diensefalon, serebellum ve özellikle ısı düzenleme ve ateş merkezi olan hipotamus hücrelerinde de yer almaktadır^{14, 16, 17}.

Peter ve arkadaşları, farelerde yaptığı bir çalışmada; farelerde 8-hidroksi-2(di-npropilamino) tetralin (8-OH-DPAT) olarak adlandırılan 5-HTR_{1A/7} agonistinin düşük dozunun ip uygulamasının vücut sıcaklığını azalttığını, bu etkinin 5-HTR₇ +/+ farelerde gözlemlenirken 5-HTR₇ -/- farelerde gözlemlenmediğini göstermişlerdir¹⁸. Bu etkiyi

5-HTR₇ reseptör antagonisti olan (R)-3-(2-(2-(4-metilpiperidin-1-yl)-etil)pirolidine-1-sulfonyl)fenol (SB-269970)'ün ip uygulamasının inhibe ettiği aynı çalışmada gösterilmiştir¹⁸. Vladimir ve arkadaşları farelerde yaptıkları bir çalışmada 5-HTR_{1A/7} reseptör agonisti olan 8-OH-DPAT'ın ip uygulamasının ve selektif serotonin 5-HTR₇ reseptör agonisti olan (4-[2-(metiltio)fenil]-N-(1,2,3,4-tetrahidro-1-naphthalenil)-1-piperasineheksanamide hidroklorid (LP44)'in intraserebroventrikular uygulamasının vücut sıcaklığını düşürdüğünü ve selektif 5-HTR₇ reseptör antagonisti olan SB 269970'ün ip uygulamasının bu etkiyi inhibe ettiklerini göstermişlerdir¹⁹. Faure ve arkadaşları sıçanlarda yaptıkları bir çalışmada 5-HTR_{1A/7} reseptör agonisti 8-OH-DPAT'ın subkutan uygulamasının hipotermiye neden olduğu, selektif 5-HT₇ reseptör antagonisti olan SB-269970'in ip uygulamasının ise bu etkiyi inhibe ettiğini göstermişlerdir²⁰. Guscott ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada ise 5-HTR_{1A}, 5-HTR_{1B}, 5-HT_{1D}, 5-HTR_{5A}, and 5-HTR₇ reseptörlerinin agonisti olan 5-carboxamidotryptamine(5-CT)'nin ip olarak verildiğinde farelerde vücut ısısını düşürdüğünü, bu etkinin 5-HTR₇ antagonisti olan SB-269970'nin ip olarak verilmesi ile inhibe edildiğini göstermişlerdir²¹.

Çalışmamızda, 5-HTR₇ agonist ve antagonistlerinin, ateş üzerine olan etkisini, parasetamolün antipiretik etkisinin 5-HT₇ reseptörleri üzerindeki olası etkisini; klinik ve moleküler yöntemler kullanarak incelemeyi amaç edindik.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Isı Regülasyonu

İnsan vücudu hayatın devamlılığı için belirli ısı seviyelerinde meydana gelen kimyasal reaksiyonlara gereksinim duyar. Bu kimyasal reaksiyonların vücut bulabilmesi ve devamlılığı için beden ısısının belirli bir seviyede tutulması gereklidir.

Vücutta fizyolojik olaylar devam ederken vücut ısısında kompensatuar değişimler olur. Fiziksel aktivite esnasında vücudun artan enerji gereksinimlerine uyum sağlamak için vücut metabolik hızını artırır ve bu da vücut ısısının artmasına neden olur. Sağlıklı bir vücutta, kimyasal tepkimelerin açığa çıkardığı enerjinin yaklaşık %70'lik kısmı ısı enerjisine ve %30'u ise mekanik enerjiye dönüşür.

2.1.1. Isı Regülasyon Merkezi

Hipotalamus memelilerdeki ısı regülasyon merkezidir. Periferik veya santral yolla ısı düzenlenmesinde sorumlu otonom, somatik ve endokrin mekanizmalar gibi pek çok mekanizma vardır. Isı regülasyonunun önemli komponentleri; ciltte yer alan soğuk ve sıcak ile ilgili reseptörler; santral sinir sisteminde yer alan reseptörlerden osmotik ısı reseptörleri; ön ve arka hipotalamusta sonlanan afferent yollar; spinal kordda yer alan ısı reseptörleridir. Efferent yollar ısı yapım veya kaybı ile ilgili kas, kan damarı, ter bezi, yağ dokusu, adrenal medulla, akciğerler ve hipotalamus gibi bölgelere iletimi sağlayarak ilgili ve gerekli mekanizmaları harekete geçirir.

2.1.2. Isı Regülasyon Mekanizmaları

Normal vücut ısısı ön hipotalamusta bulunan ısı regülasyonu merkezi tarafından kontrol edilir ve gün içerisinde değişiklik gösterir. İnsan vücudunun normal sıcaklığı 36-37.5 °C (axiller) civarındır. Günlük ısı değişiklikleri cinsiyet, mevsim ve bireysel

değişkenlere göre 0.5-0.8 °C civarında değişebilmekte olup normal erişkinlerde oral sıcaklık sabahları 36.5-37.3 °C civarında belirlenmektedir²². Yaşanılabilir en yüksek vücut sıcaklığı 43 °C, en düşük ise 26 °C'dir²³.

Isı regülasyonu, hipotalamus ve cilt yüzeyinden ziyade, derin abdominal dokuları ve spinal kordu ve beynin ekstrapotalamik bölgesini içeren sinyallere göre düzenlenmektedir²⁴. Üç aşamada meydana gelir.

1. aşama: Afferent termal duyu algılaması

2. aşama: Santral regülasyon

3. aşama: Efferent yanıtlar

Santral reseptörlerin anatomik yerleşimi tam olarak bilinmemektedir. Hipotalamusun preoptik alanında birçok nöron reseptör gibi görev yapar ve hipotalamus, septum ve orta beyindeki retiküler formasyonda da az sayıda nöronun varlığı saptanmıştır ve bu nöronların soğukla karşılaşınca deşarjları arttığı bilinmektedir²⁵. Assendan termal bilgilerin büyük bir kısmı ön spinal korda spino-talamik traktus yolu ile ulaştırılıp bilgilerin iletilmesinde tek spinal traktus yolu yeterli olmamaktadır²⁴. Isı regülasyonu cevabının tamamı ile durdurulması için anterior spinal kordun bütününün harap edilmesi gerekmektedir^{24, 26}.

2.1.2.1. Santral Regülasyon

Hipotalamus öncelikli olmak üzere merkezi sinir sistemi vücut ısısını düzenler. Isı düzenlenmesi ile ilgili bilgiler hayvan modellerinde hipotalamus incelenmesi ile toplanmıştır. Gelen bilgiler ön hipotalamusa iletilirken, arka hipotalamus ise giden yolun kontrolünü sağlamaktadır²⁴. İnsanlarda ısı regülasyon mekanizmasının yanıt oluşturmadığı ısı aralığı 0-0.4 °C'dir ve sabit nokta diurnal değişiklik göstermektedir.

Akşamları 1 °C civarında daha yüksek olup, kadınlarda menstrüel siklus luteal fazda 1 °C civarında daha yüksektir²⁴. Merkezi düzenleme, genel durumu iyi olmayan hastalarda ve yaşlılarda bozulabilmektedir. Otonomik cevap kontrolünde ise merkezi yapılardan ısı algılanması ön plandadır²⁷.

2.1.2.2. Efferent Yanıtlar

Isı değişimlerine oluşan çeşitli değişikliklerin arasında davranış değişikliği gibi cevapların yanı sıra ısıyı azaltan vazodilatasyon ve terleme, ısıyı arttıran vazokonstriksiyon ve titreme gibi vazomotor yanıtlar da oluşur. Hipotermide ise metabolik olaylarla ısı artırılabilir ve sempatik sinir sisteminin uyarılması, tiroksin salınımı ve titreme gibi mekanizmalar ile yanıt verilebilir^{25, 28}.

Hipotermi: Vücut sıcaklığının 35 °C altına inmesidir. Hipotermi vücut ısısının normalin altında olduğu ve vücut fonksiyonları için yeterli ısının üretilmediği klinik durumdur. Hipotermi için üst sınır vücut iç sıcaklığın 35 °C olmasıdır.

Hipotermi hafif hipotermi ve ciddi hipotermi olarak iki sınıfa ayrılır. Hafif hipotermide (27-32°C) yaşamsal bulgularda orta derecede baskılanma, bilinç durumunda ağır baskılanma, aritmiler ve soğuk diürezisi olur²⁹. Ciddi hipotermide ise (27°C) yaşamsal bulgular belirgin olarak baskılanmıştır ve hasta koma durumunda olup refleksler yoktur.

Ortam sıcaklığının ayarlanması, uygun kıyafetler, davranışsal düzenleme en etkili mekanizmalardır. Soğuk ortamda kas aktivitesinde artma, titreme, katekolamin salınımında artma, açlık hissi, gıda alınması ısı yapımını artırır; piloereksiyon ve vazokonstriksiyon ise ısı kaybını azaltır. Hipotermide enerji gereksinimi daha az olan vazokonstriksiyon, daha çok enerji gerektiren titreme gibi cevaplardan önce en üst düzeyde meydana gelmektedir. Zayıflık, ileri yaş veya ilaç tedavisi ısı regülasyonu cevabının etkililiğini azaltarak hipotermi olasılığını artırabilir. Örneğin; nöromusküler

hastalıklar ve kas gevşeticilerin tümü, azalmış kas kitlesi, titremeyi baskılar ve titreme eşik ısını düşürür²⁴.

Titremenin motor merkezi arka hipotalamustadır ve bu merkez normalde hipotalamustaki preoptik ısıya duyarlı bölgedeki uyarılar ile azalır. Fakat soğuk uyarılar artarsa titreme için bu motor merkez uyarılır ve spinal kordun ön motor nöronlarına çift taraflı uyarılar gönderilir. Vücut iskelet kaslarındaki tonus belli bir düzeyin üzerindeyse titreme görülür^{24, 25, 28}.

Vücudun ısı eşliğini belirlemesinin mekanizması tam olarak aydınlanmamış olup noradrenali, dopamin, 5-Hidroksitriptamin, asetil kolin, PG-E₁ ve nöropeptidler aracılığıyla olduğu düşünülmektedir. Soğukla uyarılan reflekslerin kontrolü ise arka hipofiz tarafından sağlanır.

Hipotermi çoğunlukla prematüre ve küçük bebeklerde görülür. Sepsis, ensefalit, üremi, travma, miksödem, çeşitli metabolik hastalıklar, açlık, şok ve ağır sedasyon nedeniyle gelişebilmektedir. Ayrıca enfeksiyon, egzersiz, gıda alımı, hipo yada hipertiroidizm, anestezi ve sedatif maddeler, alkol, nikotin, soğuk yada sıcak uyumu ısı eşliğini değiştirebilmektedir²⁴.

Hipertermi: Hipotalamik termostat normal düzeyde olmasına karşın vücut sıcaklığının artmasıdır. Vücut sıcaklığının 41 °C veya daha yüksek bir değere yükseldiğinde meydana gelen ve ısı regülasyonu mekanizmalarının bozulmasına neden olabilen bir durumdur. Isı kaybının azalması ya da ısı yapımının artması söz konusudur. Pirojenik sitokinlerle ilgili değildir ve diğer akut faz yanıtları yoktur. Cilt ise sıcak olmasına rağmen kurudur. Antipiretikler ise etkisizdir.

Ortam sıcaklığı yüksek ise fazla ısı vücutta kümelenebilmektedir²⁵. Fiziksel faaliyet esnasında sıcaklık 40 °C'ye kadar (axiller) artabilmektedir ve zararlı sonuçlar

meydana gelebilmektedir²⁴. Fonksiyonlarını en üst seviyede tutmak ve canlılığını devam ettirmek için insan vücudu kendisine zarar verecek seviyedeki yüksek ısıdan kurtulmanın yolunu bulmaya çalışır. Vücut ısısı iletim, ışıınım ve ısıyayım ile düşürülür. İştahsızlık, hareketlerde yavaşlama, TSH salgılanmasında azalma ısı yapımını azaltırken sıcak ortamlarda ciltte vazodilatasyon, terleme ve solunumun artması ısı kaybını arttırmaktadır²⁸. Davranış değişiklikleri de ısı düzenlenmesine katkıda bulunur³⁰.

Hipertermi, çeşitli hastalıklara bağlı olarak ortaya çıkabilmektedir (Tablo 2.1)²³

Tablo 2.1. Hipertermi nedenleri²³

ISI YAPIMININ ARTTIĞI DURUMLAR
Feokromasitoma
Tirotoksikoz
Nöroleptik malign sendrom
Anesteziye bağlı malign hipertermi
Sıcak çarpması
Katatoni
Kokain ve amfetamin
Deliriyum tremens
Status epileptikus
Yaygın tetanoz
ISI KAYBININ AZALDIĞI DURUMLAR
Nöroleptik malign sendrom
Dehidratasyon

Sıcak çarpması

Antikolinerjik ilaçlar

HİPOTALAMİK ATEŞ

Nöroleptik malign sendrom

Kafa içi kanama, ensefalit, sarkoidoz

Kafa içi granulom, travma

2.2.Ateş

2.2.1.Ateş Tanımı

Vücut sıcaklığı normal şartlarda 36.5-37,5 °C (axiller) olarak ölçülür³¹⁻³³. Gün içindeki zamana ve ölçümün yapıldığı vücut bölgesine göre sıcaklık değerlerinde farklılıklar olabilir. Sabahları alınan vücut sıcaklığı daha düşükken akşam biraz daha yüksek olabilmektedir. Normal vücut sıcaklığında sirkadiyan ritm olarak adlandırılan; sabah erken saatlerde 36 °C, öğleden sonraki saatlerde ise 37,5 °C arasında seyreden diurnal bir ritm mevcuttur. Fiziksel faaliyet, havanın sıcak olması, kalın ve sıkı giysi giyilmesi, sıcak olarak tüketilen gıdalar vücut sıcaklığını arttırabilirken sağlıklı insanlarda uykuda vücut sıcaklığı 2 °C kadar düşebilmektedir³⁴. Gebe bayanlarda ve menstrüel siklus ikinci yarısında vücut sıcaklığı progesteronun etkisiyle bir miktar artar.

Ateş, vücut sıcaklığının normalin üzerine yükselmesi olarak nitelendirilir. Vücut sıcaklığının, ölçüldüğü yere bağlı olarak ortalamadan 1 °C fazla olmasıdır. Vücut sıcaklığının 38 °C ve yüksek ölçülmesi ateş olarak nitelendirilir (Tablo 2.1). Ateş vücutta savunma sistemine yanıt olarak vücut sıcaklığında fizyolojik bir yükselme olarak tanımlanır³⁴. Kişide hastalıklara karşı savunma mekanizması olarak meydana gelen ateş,

çeşitli non-enfeksiyöz ve enfeksiyöz etkenlerin vücudun bağışıklık sistemiyle etkileşimiyle meydana gelmektedir.

Vücut ısısını ölçmek için birçok yöntem vardır. En ideal ölçüm aorta ısının ölçülmesidir. Klinikte özofagus yolu ile ölçülebilmektedir. Özofagustan alınan ısıya en yaklaşık ölçüm dış kulak yolundan (timpan zardan) ölçülen ısıdır. Klinikte koltuk altı, rektal ve ağız ısısı da vücut sıcaklığı ölçümünde sık kullanılan yöntemlerdir. Koltuk altı, kulak ve deriden alınan ölçümler ateşi olduğundan daha düşük gösterebilmektedir. En kesin olan ölçümler ise rektal termometreler ile alınan ölçümlerdir³⁴. Rektal ölçüm buradaki anatomik yapıyı ve kas fonksiyonelliğini bozabildiği ve bulaş riski oluşturduğu ve hastayı olumsuz etkilediği için çoğunlukla tercih edilmeyen bir yöntemdir.

Ağızdan ölçüm alınan sıcaklık aorta sıcaklığından yaklaşık 0,4 °C daha düşük iken, koltuk altından ölçüm alınan sıcaklık ise aorta sıcaklığından 1 °C daha düşüktür. Rektal ölçüm alınan sıcaklık ise ağızdan ölçüm alınandan 0,6°C daha yüksektir (tablo 2.2). Ancak vücut sıcaklığı bir yöntemle ölçülerek değerlendirilemez. Sıcaklık derecesinin; sublingual 37,8 °C, rektal 38 °C ve aksiller 37,2 °C'den fazla ölçüm alınması ateş olarak değerlendirilir³⁵. Vücut sıcaklığının her zaman ve her koşulda tek bir yöntemle değerlendirilmemesi gerekmektedir³⁵.

Tablo 2.2 . Ölçüm bölgesine göre en düşük ateş değerleri³⁶

Ölçüm yeri	Sıcaklık (°C)
Rektal	38.0
Oral	37.5
Aksiler	37.2
Timpanik	37.8

Ateş Kademeleri (aksiller ölçüme göre): Termometre ile aksiller olarak (koltuk altı) ölçüm alınan vucüt sıcaklıkları belirli kademelere göre sınıflandırılmaktadır. Bu kademeler bazı hastalıklar için belirleyici olabilir. Örneğin bakteriyel hastalıklarda yüksek ateş, viral hastalıklarda ise subferil ateş görülür. Ateş kademeleri tablo 2.3³⁷de belirtildiği gibi sınıflandırılmaktadır.

Tablo 2.3. Ateş türleri³⁷

	sıcaklık (°C)
Subfebril	37,2- 38 °C
Hafif	38- 38,5 °C
Orta	38,5- 39 °C
Yüksek	39- 40 °C
Hiper	40-43 °C

2.2.2. Ateş Patofizyolojisi

Vücut sıcaklığı ön hipotalamus preoptik bölgede bulunan ısı regülatör merkez tarafından düzenlenir. Ön hipotalamusta yer alan preoptik alandaki ısı düzenleyici merkez ilk sırada olmak üzere hipotalamustan beyin sapı ve medulla spinalise doğru devam eden bir yapı ile ayarlanır. Diüurnal ateş ritmini kontrol eden bu merkez ısı duyarlı nöronlar içermektedir. Çevreden hipotalamusa iletilen bilgiler önce burada işlenir, işlenen bilgiler ise giden sinirler ile vücuda iletilir ve vücutta çevresel ısı birikimi veya ısı kaybı (vazokonstriksiyon veya vazodilatasyon) yada ısı üretimi (kas kontraksiyonları) gibi düzenlemeler yapılır³⁸.

Ön ve arka preoptik hipotalamusta bulunan nöronlar periferel sıcak ve soğuk nöral reseptörlerden gelen sinyalleri dengeleyerek vücut ısısını kontrol ederler. Vücut ısısının düzenlenmesinde primer olarak hipotalamusun preoptik alanı görev yapmaktadır ve bu alan deri ve kor bölgelerdeki ısı resöptörlerinden aldığı uyarılar ile vücut ısısının kontrolünü sağlamaktadır. Standart metabolik koşullarda ısı eşik değeri 37,1 °C (axiller)'dir. Vücuda giren enfeksiyon etkenleri, toksinler yada enflamasyon mediatörleri (pirojenler) kana karıştığında monosit, makrofaj ve endotel hücrelerinden interlökin (IL) ler ve IL'lerden özellikle IL-6, Tümör Nekrotizan Faktör-alfa (TNF- α), İnterferon-Gama (IFN- γ) gibi pirojen sitokinler salgılanmaktadır. Bu sitokinler ise PG-E₂ salınımını arttırmaktadır. Artan PG-E₂ ise ön hipotalamusu uyarır ve ısı regülasyon eşik değerini yukarıya çeker. Bunun sonucunda ise ısı yapımı artar ve ateş meydana gelir. Ayrıca Siklik AMP (c-AMP) ve serotonin de ateşin düzenlenmesinde etkilidir. Hipotalamusta 5-HT reseptörleri (5-HTR)'nin yoğunluğu¹⁴, 5-HTR₇ nin c-AMP'yi uyarması¹⁸, uyarılan c-AMP'nin siklooksijenaz-2 (COX-2)'yi ve dolayısıyla PG-E₂'yi arttırması ve dolayısıyla ateşi yükseltmesi olası bir mekanizmadır³⁹. Ön hiptamusta preoptik bölgede yer alan NMDA resöptörlerinin 5-HTR₇'nin aktivasyonu ile artması ve ateş oluşumuna neden olması olası fizyopatolojik mekanizmalar içindedir⁴⁰.

IL-1 α ve IL-1 β ve COX-2; fosfolipaz A₂, nitrik oksit (NO) ve indüklenbilir nitrik oksit sentaz (iNOS)'ı aktive eder.

2.2.3. Ateş fizyopatolojisinde rol oynayan sitokinler

Sitokinler: Sitokinler işlevlerine ve yapı özelliklerine göre gruplanırlar. İnterferonlar, interlökinler, koloni stimule edici faktörler, kemokinler, büyüme ve tümör nekroz faktörleridir. Sitokinler, immun sistem hücreleri tarafından inflamasyon olayı sırasında sentez edilip, çevrelerine salınan lokal etkili özel peptid veya protein yapılı

inflamasyon mediyatörleridir. Sitokinler yüzeylerindeki kendilerine özgü reseptörleri uyararak hedef hücreleri etkilerler. Bu reseptörler kinazla ilişkili reseptör tipindedir. Bu reseptörlerin aktivasyonları ile hedef hücrelerde belirli genlerin ekspresyonunu arttırarak inflamasyon olayında diğer sitokinlerle sinerjistik, bazende antagonistik etkileşim yaparlar. Lokal etki ederek salgılandıkları hücreleri (otokrin etki) veya çevrelerindeki diğer hücreleri etkilerler (parakrin etki). Sitokinler SSS' ne nöral yolla ve dolaşım yoluyla ulaşmaktadırlar. Şimdiye kadar yapılan çalışmalarda çevresel sinirlerin ateş oluşumundaki görevleri belirlenmiştir. Vagal sinir bu yönden önemli görev almaktadır. Beyin ile immun sistem arasındaki iletişimi özellikle vagal afferent lifler sağlamaktadır. Erken febril dönemde önemli olan nöral yol geç febril dönemde etkili değildir.

Makrofaj ve monositlerden salgılanan endojen pirojen maddelere pirojenik sitokinler denir. Sitokinler antijenik uyarılara cevaben salgılanan, özellikle makrofaj ve lenfositlerden salınan ve bağışıklık mekanizmalarının düzenlenmesini sağlayan hormon benzeri polipeptidlerdir. Ateş patofizyolojisinde görev alan sitokinler IL-1 α ve IL-1 β , IL-6, TNF ve IFN'lardır. IL-1 α ve IL-1 β en güçlü endojen pirojenler (EP)' dirler. TNF, IL-1 ile benzer özelliktedir. IL-1 üretimini arttırmaktadır ve ateşin sürdürülmesine, 3-4 saat sonra ise ikinci ateş piki oluşumuna neden olmaktadır. TNF ve IL-1 etkisini, IL-6 üzerinden göstermektedir. En güçlü pirojen sitokin IFN ailesinden IFN- α 'dır. EP olarak düşünülen diğer maddeler ise IL-2, granülosit-monosit koloni stimulan faktör (GM-CSF), immün kompleksler, kompleman 3a (C3a) ve kompleman 5a (C5a)'dır⁴¹.

Isı merkezi enfeksiyon, yaralanma, inflamasyon ve antijenik değişiklikler sırasında oluşan polipeptid yapıdaki EP'ler ile uyarılır (Tablo 2.5)⁴². "Ekzojen pirojenler" ise endojen pirojenlerin açığa çıkmasına neden olan maddelerdir (Tablo 2.4)⁴². Bu pirojenler hipotalamusta çeşitli biyokimyasal değişiklikleri tetikler ve ateşe sebebiyet

verirler. EP'ler, ekzojen veya endojen pekçok maddenin monosit ve makrofajlara etki etmesiyle oluşmaktadır⁴².

Tablo 2.4. Ekzojen pirojenler⁴²

Viruslar ve bakteriler, fungal antijenler
Peptidoglikan ve kapsül polisakkaritleri
Endotoksin, enterotoksin, eritrojenik toksin, toksik şok sendrom toksinleri
Antijen-antikor uyaranları,
İlaçlar,
Pirojen steroidler
IL-1 ve 2, TNF, IFN gibi nöromediatörler

Tablo 2.5. Endojen pirojenler (pirojen sitokinler)⁴²

IL-1 (α , β), 6, 11
TNF (α , β)
INF (α , β , γ)

2.2.4. Ateşin Yararları

Ateşin faydalılığı ya da zararlılığı konusu henüz netlik kazanmayan bir konudur. Çeşitli canlıların mikroorganizmalarla karşılaştıkları zaman vücut sıcaklıklarını arttırdığı belirlenmiştir. Bu durumlarda ateş cevabının o canlıda zararlı mikroorganizmalar üzerine yararlı etkilerinin olabileceği kabul edilmiştir. Örnek olarak kertenkelelere ve balıklara enjekte edilen mikroptan sonra bu canlılarda vücut sıcaklığının yükseldiği ve bu artışın olumlu etkilere neden olduğu görülmüştür. Farelerde yapılan çeşitli çalışmalarda ateşin farelerde çeşitli enfeksiyonlara (herpes, polio, kuduz gibi) direnci artırdığı saptanmıştır.

Çeşitli çalışmalarda da insan bağışıklık sisteminin çeşitli hastalıklara bağlı olarak oluşan ateşli dönemlerde normal vucüt sıcaklığına nispeten daha iyi çalıştığı saptanmıştır⁴³⁻⁴⁶.

Vücut sıcaklığındaki artışın yararlı etkilerini özetleyecek olursak; nötrofil ve lökosit göçünü, nötrofillerde antibakteriyel madde üretimini, interferon ve fagositoz oluşumunu, interferonun antitümör ve antiviral aktivitesini, mitojene lenfosit transformasyon cevabını, makrofajların bakterileri öldürme kabiliyetlerini, adaptif mekanizmalara katkıda bulunan stres hormonlarının salınmasını, T ve B hücre yanıtını, sitolitik T hücre oluşumunu arttırırken, glikoz oluşumunu, iştahsızlık nedeniyle kana serbest glikoz geçişini, hareketsizlik nedeniyle kasların enerji gereksinimini, patojen bakterilerin yüksek ısıda Fe ihtiyaçları artması ve Fe kullanımı nedeniyle Fe'i azaltır.

2.2.5.Ateşin Zararları

Ateş bazı durumlarda oldukça faydalı iken bazı durumlarda ise zararlı olabilmektedir. 40°C üzerinde olan ateşin bağışıklık sistemine faydalı olmadığı ispatlanmıştır. Yüksek ateş beyin olmak üzere pek çok organı etkiler. Vücut sıcaklığı 42 °C üzerine çıkarsa beyinde kalıcı nörolojik defisitler meydana gelebilmektedir. Yapılan otopsielerde yüksek ateş nedeniyle ölen çocukların incelenen beyin hücrelerinde harabiyet saptanmıştır^{27, 44, 47-49}.

Ateş oksijen tüketimini artırdığı için beynin oksijen gereksinimini artırır. Ateş sırasında karbondioksit gazı oluşumu, organik asit yapımı ve su kaybı artmaktadır. İntrakraniyal basınç artar. Artan 1°C sıcaklık için kalp hızı dakikada 20 atım artar. Bunun sonucunda kalp yükü artar. Çevresel damarlarda dilatasyon sonucu kan basıncı düşerken solunum hızı ise artar. Kalp yetmezliği bulguları olan hastalarda belirtiler artabilir. Ateş pek çok hastalıkta hastalığı olumsuz yönde etkiler. Ateş epilepside nöbet sıklığını arttırır. 6 ay–5 yaş arasındaki çocuklarda ateşin, yüksek riskli olarak febril konvülsiyon riskini

arttırdığı bilinmektedir. Febril konvülsiyon %4 oranında görülür ve sonrasında epilepsi gelişme riski %2 oranındadır. Bu oran genel epilepsi oranının (%1) iki katıdır^{27, 44, 47, 48, 50, 51}.

Febril konvülsiyonlu olgularda konvüzyon oluşma zamanının %61 çocukta ateş başlangıcından sonra 12, %81 çocukta ise ateş başlangıcından sonra 24 saatten daha kısa olduğu gözlemlenmiştir⁵² (12).Yapılan farklı bir çalışmada ise febril konvülsiyon geçiren çocuklarda yüksek ateşin (>40°C) daha düşük febril konvülsiyon riski taşıdığı gösterilmiştir. Febril konvülsiyon genelde ateşin oluşmaya başladığı ilk günlerde (37,5°C civarında) ya da 40°C'ye ulaştığı yüksek sıcaklık düzeylerinde meydana gelmektedir. Febril konvülsiyon sıklıkla kendiliğinden düzelebilir ve genelde kalıcı nörolojik sekele sebebiyet vermez^{47, 48, 53, 54}.

Vücut ısısının yükselmesi durumunda; baş dönmesi ve ağrısı, karın ağrısı, genel susuzluk belirtileri, ışığa karşı duyarlılık, kusma, huzursuzluk, taşikardi, solunum zorluğu, halsizlik, terleme ve febril deliryum gibi semptom ya da belirtiler ortaya çıkabilir^{27, 44, 46, 51}.

Isı şoku: Ateşin 42 °C üzerine çıktığı olgularda deliryum ya da koma ile karakterize tehlikeli bir durumdur. Isı şoku hipotalamusta yer alan ısı düzenleme merkezinde meydana gelen hasar sonucu gelişir. Tedavi edilmediği takdirde mortalite %80 üzerine çıkabilmektedir. Sağ kalan hastalarda ağır konuşma bozukluğu ve serebral ataksi gibi nörolojik sekeller oluşabilir. Çocukluk dönemi hastalıklarında çocuk çok sıkı giydirilmedikçe, merkezi sinir sistemi enfeksiyonu yoksa veya terlemeyi engelleyen herhangi bir hastalık yoksa ısı şoku oluşması beklenmez⁵³.

2.2.6.Ateş Etyolojisi

Pekçok etken ateşe neden olabilmektedir (Tablo 2.6)³⁷.

Tablo 2.6. Ateşe neden olan hastalık grupları³⁷

Enfeksiyonlar: Bakteriyal, viral, fungal, protozoal enfeksiyonlar
Kollagen Doku Hastalıkları: Sistemik lupus eritematozis, poliarteritis nodosa, dermatomyozit, akut romatizmal ateş, juvenil romatoid artrit (Still hastalığı)
Malign Hastalıklar: Hodgkin ve Non Hodgkin lenfoma; lösemi, solid tümörler
Metabolik Hastalıklar: Hipertiroidi
Kardiyovasküler Sistem Hastalıkları: Miyokard enfarktüsü, tromboemboli
Gastrointestinal Sistem Hastalıkları: Enflamatuar bağırsak hastalıkları

Enfeksiyonlar: Bakteriyal, viral, paraziter, fungal, mikoplazmal, riketsiyal ve klamidyal enfeksiyonlar, lokal yada sistemik, septisemik, iltihabi yada iltihabi olmayan tüm enfeksiyonlar ateşe neden olabilmektedir.

Neoplastik hastalıklar: Solid ve metastatik kitleler ve malign melanom gibi hastalıkların pek çoğunda ateş görülebilmektedir. Ateş, genellikle kitlenin sebebiyet verdiği enfeksiyon veya obstrüksiyon nedeniyle olabilir. Bazı kitlelerde (özellikle karaciğer ve mide kitlelerinde) ateş kitlenin kendi varlığına da bağlı gelişebilmektedir. Hodgkin lenfomada ateş, hastalığın ilk belirtisidir.

Merkezi sinir sistemi hastalıkları: Beyin kitleleri, beyinde oluşan kanamalar ve buna bağlı trombozlar, ensefalopatiler, oluşan medulla spinalis kesileri, hipotalamus lezyonlarına bağlı oluşan ısı düzeleme merkezinde oluşan bozukluklarda ateş meydana gelebilmektedir.

Mekanik travmaya bağlı oluşan bozukluklar: Ezilme (crush) sendromunda, bir yada iki gün süre ile ateş meydana gelebilmektedir.

Hemopoetik sistem bozuklukları: Hemolitik hastalıklar, özellikle lösemi ateşe sebep olabilmektedir.

Vasküler hastalıklar: Kalp kası enfarktüsü, beyin dokusu ve akciğer, enfarktüsü, dissekan anevrizmalar ve buna bağlı olarak oluşan hematomlarda ateş oluşabilmektedir.

İmmün sistem hastalıkları: Kollagen doku hastalıkları, serum hastalığı, ilaca bağlı oluşan ateş ve psikojenik ateş bu grupta yer almaktadır.

Akut metabolik bozukluklar: Gut hastalığı, tiroid krizi ve porfiria gibi hastalıklarda da ateş oluşabilmektedir.

İlaça bağlı oluşan ateş : İlaçlar sık olarak ateşe sebep olabilmektedir. Büyük kısmı ise antibiyotiklerle ilgilidir³⁷. İlaç ateşi, sürekli yada intermittan şekilde gelişebilmektedir, enfeksiyon ateşine benzeyebilmekte ve lökositoz görülebilmektedir. Ateş haricinde genel sistemik belirtiler olmayabilir. Döküntü, proteinüri, artrit yada artralji, eozinofili, karaciğer enzim artışı gibi hipersensitivite belirtileri görülebilir. Eritrosit sedimentasyon hızı artışı görülebilir. Temel klinik özellikleri; ateşle uyumsuz olarak hastanın iyi görünmesi ve hissetmesi ve diskordans olmasıdır. İlaç kullanımına ara verildikten 24-48 saat sonra ateş düşmeye başlamaktadır. Yarı ömrü uzun olan ilaçlarda ise bu süre ilacın yarı ömrüne bağlı olarak uzayabilmektedir. İlaç ateşine sebep olan ilaçlardan bazıları: Barbitürat grubu ilaçlar, penisilin grubu ilaçlar, sefalosporin grubu ilaçlar, salisilat grubu ilaçlar, sülfonamid grubu ilaçlar, amfoterisin-B, atropin, bleomisin, metildopa ve interferonlar³⁷.

2.2.7. Ateş Türleri

Subfebril : Ölçülen ateşin 36,8-38 °C arasında uzun süreli olarak devam etmesidir.

Sürekli : Ölçülen ateş 38 °C nin üzerinde olup, sabah ve akşamki ateş değerleri arasında 1 °C'den az sıcaklık farkı bulunmaktadır.

Oynak : Sabah ve akşam saatlerinde ölçüm alınan ateş değerleri arasında 1 °C' den fazla fark olup sabah ölçüm alınan ateş değerlerinin 37 °C' nin altına inmemesi durumunda görülür.

Aralıklı : Sabah ve akşam ölçüm alınan ateş değerleri arasında 1 °C'den fazla fark olup, sabah ateş değerlerinin 37 °C'nin altında olması ile karakterize ateş şeklidir.

Dönek : Anlık olarak artıp birkaç gün süren ve yine anlık olarak düşerek ateşsiz günlerin görüldüğü ve ardından tekrar birkaç günlük ateşli günlerin görüldüğü ateş.

Dalgalı : Bruselloz hastalığında olan ateş türüdür ve ateş her gün bir önceki güne göre artarak yavaşça ve remittan olarak artmaktadır. Birkaç gün sabit olarak devam ettikten sonra tekrar düşmeye başlar. 4-5 gün düşük seviyede seyrettikten sonra tekrar aynı şekilde yükselmeye başlar.

Hektik : Diurnal ritmin daha belirgin olarak görüldüğü ateş türüdür. Ateş genelde sabahları düşük akşamları yüksek ölçülür.

Günde İki Zirveli : ölçüm alınan ateşin günde iki kez artması ile karakterize ateş türüdür.

2.2.8. Ateş Ölçüm Yöntemleri

Ateş ölçümleri çeşitli termometre türleri ile yapılabilmektedir. Piyasada elektronik, civalı standart, infrared ışınli ve ısıya duyarlı filmlili (likit kristal veya plastik bant) çeşitleri mevcuttur. Ateş ölçümleri santigrad (C) ya da fahrenheit (F) birimleri ile belirtilir. Ölçümler ' $C \times 1.8 + 32 = F$ ' hesabı ile birbirine çevrilebilir.

Ağız yoluyla (dilaltı) ölçümü; genelde 5 yaş üstü hastalarda tercih edilir. Dilaltı bölgesi dış karotis arterinin ana dalı tarafından kanlandığı ve ortam sıcaklığından etkilenmediğinden tercih edilir. Ölçüm alınacak hasta uyumlu olmalıdır. Dil altı ölçülen sıcaklık 37,4-38,4 °C ise subfebril, 38,5-39,0 °C ise hafif, 39-40 °C ise yüksek, 41 °C üzeri çok yüksek ateş olarak değerlendirilir⁵⁵.

Koltuk altı ölçümü; kolay uygulama ve güvenilir olması tercih sebebidir. Dezavantajları ise termometrenin yerinden oynaması, takibin zor olması, uygulama süresinin uzunluğu, ateşe bağılı terleme nedeniyle ateşin olduğundan düşük ölçülmesidir⁵⁶. Koltuk altı alınan ölçümlerde 37,2 °C'nin üzeri değerler ateş olarak kabul edilmektedir. Koltuk altı ölçümleri rektal ölçülen sıcaklığa nispeten 1 °C, dilaltı ısıya nispeten ise 0,5 °C daha az alınmaktadır⁵⁵.

Makattan alınan ölçüm; rektumun dış ortamın ısısından etkilenmemesi ve kullanım kısıtlılığı olmaması nedeniyle avantajlı bir yöntemdir. Çocuklar için rahatsız edici bir yöntem olması, hijyenik olmaması ve makat bölgesinde ağrı oluşturması ise dezavantajlarıdır. Rektal sıcaklık ölçümünün 37,6 °C'nin üzerinde olması ateş olarak kabul edilir.

Kulaktan ölçüm; ateş ölçümünde hipotalamusun ısı düzenleyici bölgesine yakınlığı nedeniyle en iyi alan olarak düşünülmektedir. Hızlı ölçüm alınabilmesi, ölçümün ortamın ısısından etkilenmemesi, enfeksiyon ihtimali olmaması kulak

ölçümünün olumlu yönleridir. Ölçümün bilinçli olarak yapılmasının gerekliliği, 3 yaş üzerinde daha stabil sonuçlar vermesi yöntemin olumsuz yönleridir. İnfrared termometreler; uzaktan ve lazer ışın sistemi ile ölçüm yapan termometrelerdir. 38 °C'den yüksek alınan ölçümler ateş olarak değerlendirilmektedir⁵⁵⁻⁵⁸.

2.2.9.Lipopolisakkarit (LPS) ile oluşturulan ateş modeli

DeneySEL olarak ateş oluşturabilmek için genellikle gram (-) bakteri duvarından elde edilen LPS kullanılmaktadır. Yapısal olarak LPS, kompleks bir lipid ve polisakkarid karışımıdır. Lipid bölüm lipid A adını almaktadır ve çeşitli serotip farklılıklarına rağmen türler arasında çok benzerdir. Bu bölüm klasik olarak LPS nin bütün biyolojik etkilerinden sorumlu tutulmaktadır⁵⁹. Oysa polisakkarid bölge türler arasında farklılıklar göstermektedir ve türlerin antijenik spesifitesini sağlamaktadır⁶⁰. LPS ile oluşan hipotermik ve pirojenik yanıtların santral etki mekanizmalarında, her iki yanıtın da hipotalamik düzeyde prostaglandin sentezi artışı yoluyla oluşabileceğini gösteren literatür bilgileri mevcuttur^{61, 62}.

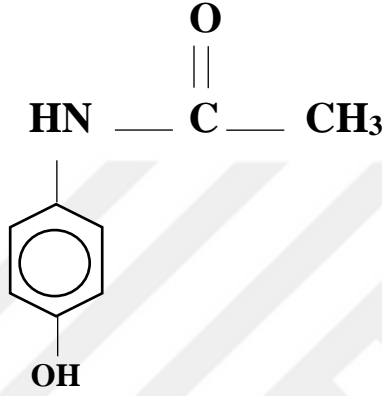
2.3.Parasetamol

1878'te ilk defa Harmon Northrop Morse tarafından p-nitrofenolün asetik asitle indirgenmesiyle sentezlenen parasetamol, Von Mering tarafından bir süre klinikte kullanılmıştır^{63,64}. Toksisitesi nedeni ile kullanımına ara verilen parasetamol, 1948'de Brodie ve Axelrod'un asetaminid gibi toksik etkilere sahip olmadığını bildirmesi ile tekrar çalışılmaya başlanmıştır⁶⁵. 1955'te ABD'de 'Tylenol' adı altında piyasaya sürülmüştür. 1956'da İngiltere'de 'Panadol' ve 1958'de çocuklar için 'Panadol elixir' şeklinde kullanıma sunulmuştur.

Parasetamol (Asetaminofen, N-asetil-p-aminofenol, APAP)'ün kimyasal formülü $C_8H_9NO_2$ olup (şekil 2.1) Parasetamolün yapısı, fenasetinin aktif metabolitidir. Molekül

ağırlığı 151.17 gram/mol (gr/mol), yoğunluğu 1.263 gram/santimetreküp (gr/cm³) ve erime noktası 169 °C'dir¹. Yapısal olarak beyaz, kokusuz ve hafif acı tada sahip kristal toz şeklindedir.

Parasetamol bütün dünyada yaygın olarak kullanılan çocuk, yaşlı ve gebelerde dahi güvenilir olarak görülen analjezik/antipiretik ilaçlardan bir tanesidir.



Şekil 2.1. Parasetamolün yapısı ⁶⁶

2.3.1. Parasetamolün Farmakolojik Özellikleri

Parasetamol sentetik, narkotik olmayan bir para-aminofenol türevidir. Tek başına veya antiinflamatuvar ilaçların etkisini arttırmak için kombine halde hazırlanan flakon, suppozituar, tablet, kapsül veya şurup halinde kullanıma sunulmuştur. Ateşli hastalıklar, soğuk algınlığı ve gribal enfeksiyonlar başta olmak üzere, baş ağrısı, migren, diş ağrıları, dismenore, cerrahi operasyonlardan sonra oluşan ağrılarda ve daha pek çok endikasyonda kullanılmaktadır. Özellikle şurup formu çocukluk çağında ağrılı, ateşli hastalıklarda ve aşı sonrası sık reçete edilmektedir. Gebelikte de analjezik ve antipiretik olarak güvenle kullanılabilen ilaçtır. Erişkinlerde 500-1000 miligram (mg) dozunda ağız yolundan gerekirse günde 4-6 kez tekrarlanarak verilir. Günlük maksimum dozu 4 gr olarak belirtilmiştir. İnfantlarda bir kerelik doz 60-120 mg ve 1-5 yaş arası ise 120-250 mg olup

günde 3-4 kez tekrarlanabilir. Parasetamolün terapötik etki gösterdiği serum konsantrasyonu yaklaşık 10-20 mikrogram/mililitre($\mu\text{g/ml}$)'dir. Yemeklerle alındığında biyoyararlanımı azalır. Böbrek yetmezliğinde, alkoliklerde, izoniazid kullanımında doz ayarlanmalıdır.

Analjezik ve antipiretik etkisi yüksek, antienflamatuar etkinliği ise düşük bir ilaçtır⁶⁷. Solunum sistemi, kardiyovasküler sistem ve asit-baz dengesi üzerinde belirli etkisi yoktur. Midede irritasyona ve kanamaya neden olmaz. Antitombositik etkinliği zayıftır. Protrombin sentezi üzerinde etki yapmaz ve kanama süresini değiştirmez. Oral antikoagülanlarla ve ürikozürik ilaçlarla etkileşmez. Plazma proteinlerine fazla bağlanmaz⁶⁸.

50 yılı aşkın süredir klinikte kullanılan parasetamolün analjezik etki mekanizması tam olarak aydınlatılamamıştır. COX inhibisyonu, endojen opioid yolakla etkileşme, serotonerjik bulboşpinal yolak aktivasyonu, nitrit oksit yolak ilişkisi ve kanabinoid vanilloid tonusu artırması olası etki mekanizmaları ile ilgili araştırılmıştır^{1, 2, 5, 7, 69, 70}. Genel olarak analjezik etkilerden sorumlu mekanizmaların santral kaynaklı olduğu görüşü hâkimdir.

Özellikle beyinde COX-1 ve COX-2 dışındaki siklooksijenazları (COX-3) inhibe etmesinin santral analjezik ve antipiretik etkisinde rol oynadığı kabul edilmiştir. Parasetamolün hipotalamus ve omurilik gibi peroksidlerden fakir ortamda, PG üretimini azaltabilmesi onu diğer benzeri ilaçlardan farklı olmasına neden olmuştur. Antipiretik ve analjezik etkilerini sırasıyla, hipotalamus ve omurilik arka boynuzunda PG üretimi ve salınmasını azaltması ile ilgili olduğu düşünülmüştür.

2.3.2. Parasetamolün Farmakokinetiği ve Metabolizması

Oral alımı takiben parasetamol gastrointestinal sistemden hızlıca emilir. Plazma konsantrasyonu 30 dakika ile 1 saat arasında maximum değerine ulaşır. Yarılanma ömrü

yaklaşık 2 saattir. Analjezik etkisi ilk dozdan itibaren 3-4 saat kadar sürer. Besinlerle birlikte alınınca emilimi azalır ve etkisinin başlama süresi gecikir. Plazma proteinlerine diğer nonsteroid antiinflamatuvar (NSAI) ilaçlara göre daha az bağlanır. Hemen hemen tüm vücut sıvılarına dağılım gösterir. Yaklaşık %2-3'ü idrarla direkt atılırken, %90-95'i karaciğerde hepatositlerin düz endoplazmik retikulumlarında metabolize edilir. Karaciğerde konjugasyona uğrayarak glukronik asit (~%60), sülfürik asit (~%35), sistein (~%3) ve küçük miktarda hidroksilli ve deasetilli metabolitlerine dönüşür ve idrarla atılır⁷¹. Çocukların parasetamolü glukuronidasyon kapasitesi erişkinlere göre daha azdır. Parasetamolün küçük bir kısmı ise sitokrom-p aracılı N- hidroksilasyonla n-asetil-p-benzokinonimin (NAPQI)'a dönüşür. NAPQI reaktif bir ara üründür, hepatic glutatyon tarafından böbrekten elimine edilir ve toksik olmayan asetaminofen-merkapturat bileşiğine detoksifiye olur.

2.3.3.Parasetamolün Antipiretik Etki Mekanizması

Parasetamolün antipiretik etki mekanizmasıyla ilgili olduğu düşünülen olası mekanizmalar, COX inhibisyonu¹, endojen opioidergik sistem ile etkileşme, L-arjinin/NO yolak etkisi³, P maddesi ve NMDA aracılı olan etki, parasetamolün aktif metabolitlerinin beyinde kanabinoid ve vaniloid reseptörlerine olan etkisi, inen inhibitör serotonerjik yolak üzerine olan etkisi^{6,7} olarak düşünülmektedir. Bu çalışmalarda sıçan recombinant 293 HEK hücrelerinde parasetamolün serotonin reseptörlerine doğrudan bağlanmadığı görülmüştür⁸. Bu yüzden parasetamolün serotonerjik yolaklar üzerindeki etkisinin indirekt olduğu düşünülmektedir⁸.

COX-2'nin bulunması ve Cox-2 ile bilgilerin ayrıntılandırılması ile NSAI ilaçlarla ilgili birçok mekanizma çözülmüştür. Parasetamolün etki mekanizmasında COX inhibisyonunun görevi ise net olarak aydınlatılamamıştır. Beyindeki COX'ın dalaktaki COX'dan, parasetamolün etkisine daha duyarlı olduğu gösterilmiş ve dokuya özel COX'

ların varlığına dikkat çekilmiştir⁷². Bu enzime karşı parasetamolle birlikte diğer NSAI ilaçların hassasiyeti incelenmiştir. Parasetamol bu enzime karşı COX-1 ve COX-2 den daha hassastır⁷³. NSAI ilaçlara ve parasetamolün etkisine hassas olduğu düşünüldüğü için bu protein COX-3 olarak adlandırılmıştır. Bu nedenle COX-3 mevcudiyetini, COX-1 ve COX-2'ye karşı zayıf inhibitör olan ilaçların farmakolojik etkilerinin açıklanabileceği bir mekanizma olarak ileri sürülmüştür⁷⁴. Western blot ile COX-3'ün insan dokusunda ve fare beyinde varlığı gösterilmiştir^{74, 75}. Parasetamolün SSS'ne kolay geçtiği iddia edilmiştir⁷⁶.

Parasetamolün etkisinin COX-3 üzerinden olduğu ya da bu etkide COX-3 enziminin rolünün olduğunu belirten çalışmalar olmuştur. PG-E₂ üretim miktarı ile parasetamolün etkisi ters orantılı olarak ilişkilidir. Parasetamol prostaglandin (PG) sentezini düşük konsantrasyonda araşidonik asit varlığında ve düşük hızda PG sentez varlığında daha güçlü olarak azaltmaktadır. Bu nedenle daha düşük konsantrasyonlarda COX-3 içeren hücreler üzerinde parasetamolün güçlü etkisinin bu izoenzime (COX-3'e) özgün olmadığı ve COX-3 içeren hücrelerin düşük oranda PG sentezi yaptığı vurgulanmıştır. Dolayısıyla COX-3'ün COX-1'in bir varyantı olduğu ve PG-E₂ inhibisyonu açısından COX-1'den daha zayıf bir güce sahip olduğu (yaklaşık 1/5) ve COX-3'ün parasetamolün temel etki mekanizmasında bulunmadığı öne sürülmüştür⁷⁷. COX-3 inhibisyonunun parasetamolün etki mekanizmasında yer almadığı başka çalışmalarda da öne sürülmüştür.

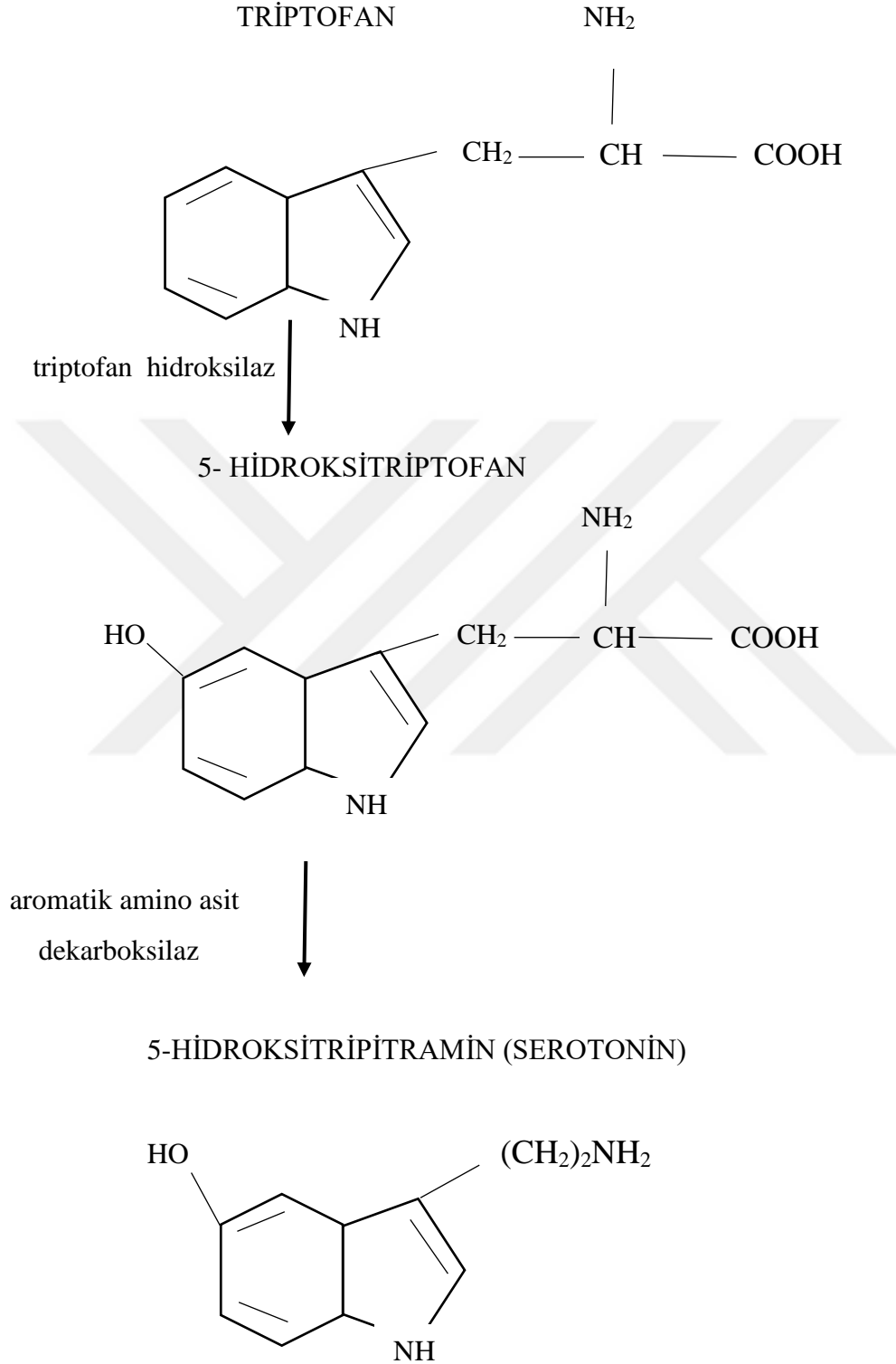
Parasetamolün analjezik ve antipiretik niteliğinin COX-2 ile ilgili olduğu ve PG-E₂'nin hipotalamusta artışının ateşe sebep olduğu belirtilmiştir. Parasetamol diğer COX-2 inhibitörleri gibi analjezik ve antipiretikdir. LPS, IL-1 β ve COX-2 geni çıkarılmış farelerde ateşe sebep olmadığı ancak COX-1 geni çıkarılmış farelerde ateşe sebep olduğu gösterilmiştir⁷⁸. Bu yüzden parasetamolün PG sentezi üzerine olan etkisinin COX-2 veya

bununla ilgili bir enzim, üzerinden olduğu düşünölmüştür. Bu nedenle parasetamolün etkisinin COX-1 ya da COX-3 gibi bir enzim üzerinden olmadığı belirtilmiştir. Bunu doğrulayan iki çalışmada, insanlar ve farelerde COX-3'ün kodladığı proteinlerin COX-1 veya COX-2'den farklı aminoasit sekanslarına sahip olduğu ve COX aktivitesine sahip olmadığı, bu nedenle bu türlerde PG'le ilişkili ateş ve ağrıda rol almadığı belirtilmiştir².³. Benzer olarak COX-2'nin SSS'de fazla bulunduğu ve upregölasyona uğrayarak ateş algılanmasını artırdığı, beyindeki varyantının COX-1 den farklı olarak COX-2 varyantı olabileceği düşünölmektedir. Parasetamolün etki mekanizmalarından birinin COX-3 enzimi üzerinden olduğu kabul görse de, bunun tüm vücutta prostanoit üretimine katkıda bulunan ve COX-1 ve COX-2 den farklı olan bir çeşit olabileceği düşünölmüştür⁷⁹. Dolayısıyla COX-1 ve COX-2 enzimleri dışında parasetamolün etki ettiği enzimler tam olarak aydınlatılamamıştır.

2.4. Serotonin

Serotonin ilk olarak 1937'de Erspamer ve ekibi tarafından enterokromafin hücrelerde bulunup, enteramine adı ile hayatımıza girmiştir⁸⁰. Birkaç yıl sonra serumda tespit edilen (sero) ve vasokonstriktör (tonin) etkisi de bulunan bu madde serotonin olarak adlandırılmıştır^{81, 82}. İlerleyen süreçte beyinde de tespit edilen 5-hidroksitriptamin ve serotoninin (5-HT) aynı madde olduğu anlaşılmıştır^{83, 84}. Serotonin, diğer adıyla 5-hidroksitriptaminin, kimyasal formülü C₁₀H₁₂N₂O'dur. Sentezi esansiyel bir aminoasit olan triptofanın besinlerle alınması ile başlar. Bunun yaklaşık %10 kadarı 5-HT sentezinde kullanılırken kalan kısmı kinureinlerin sentezi için gereklidir. Triptofan 5 numaralı karbonundan Triptofan hidroksilaz (TPH) enzimi ile hidroksillenerek 5-hidroksitriptofan oluşur bu da aromatik L-amino asit dekarboksilaz (dopa dekarboksilaz) ile katalizlenerek iki basamakta 5-HT meydana gelir. Monoaminoksidaz enzimi

tarafından 5-hidroksi-indol-asetik aside (5-HİAA) dönüştürülerek metabolize edilir(Şekil 2.2)⁸⁵.



Şekil 2.2. Serotonin metabolizması⁸⁵

İnsan vücudunda toplam 10 mg kadar 5-HT bulunduğu bunun %95'inin mide ve barsak mukozası enterokromafin hücrelerinde, daha az oranda ise oradaki enterik mast hücrelerinde ve serotonerjik nöronlarda olduğu tespit edilmiştir. Yine mide-barsak çeperindeki enterik sinir sistemini oluşturan myenterik plexus ve submukozal plexustaki nöronların bir kısmı serotonerjik nöronlardır. Mide-barsak dışında kalan 5-HT'nin büyük kısmı ise kanda trombositler içinde ve SSS'de bulunur⁹.

Serotonin depresyon, anksiyete, sosyal fobi, şizofreni, obsesif kompulsif bozukluk, panik bozukluk, migren, hipertansiyon, pulmoner hipertansiyon, yeme bozuklukları, kusma, irritabl barsak sendromu gibi hastalıklardan sorumlu tutulmuştur.¹⁰ Ayrıca kardiyovasküler regülasyonda, ısı düzenlenmesinde, uyku-uyanma sirkülasyonunda, beslenme, saldırganlık, seksüel tavır, öğrenme gibi durumlarda etkileri araştırılmaktadır¹¹. Serotonin ilaç olarak kullanılmaz. Etkileri, reseptörlerinin agonist ve antagonistleri aracılığı ile oluşturulur.

2.4.1. Serotonin Reseptörleri

Serotonin reseptörleri 1957'de guine pig ileumunun morfin ve dibenziline verdiği fonksiyonel cevaba göre ilk sınıflandırılarak M ve D olarak 2 gruba ayrılmıştır⁸⁶. Farmakolojik, elektrofizyolojik, deoksiribonükleik asit (DNA) klonlaması, radyoligand bağlama gibi yeni deneysel yöntemlerin denenmesi ile serotonin reseptörlerinin günümüzde 5-HTR₁ den 5-HTR₇ ye kadar olmak üzere 7 tip ve bazı grupların alttipleri tanımlanmıştır^{12, 13}. Bu hali ile en geniş nörotransmitter reseptör ailelerindedir. Dolayısıyla birçok fizyolojik ve patolojik olayda suçlanmaktadır.

5-HT beyinde ve periferde etkilerini, membrana bağlı bu reseptörlerin aktivasyonu ile gelişen hücre içi olaylar sonucu gösterir. 5-HTR'leri 5-HTR₃ reseptörü hariç genelde bir G proteinine kenetli heptahelikal reseptörlerdir. 5-HTR₃ reseptörü ise bir iyon kanalı aracılığı ile çalışır.

5-HTR₁ reseptörlerinin 5-HTR_{1A}, 5-HTR_{1B}, 5-HTR_{1D}, 5-HTR_{1E} ve 5-HTR_{1F} olmak üzere 5 alttipi vardır. 5-HTR_{1C} reseptörü ise 5-HTR_{2C} ile beraber sınıflandırılmış olup en çok çalışma yapılan ve en iyi tanımlanan gruptur. 5-HTR_{1A} reseptörleri genellikle SSS'nde bulunurlar, kardiyovasküler sistemde etkilerine rastlanmamıştır⁸⁷. 5-HTR_{1B} reseptörü SSS'de serotonerjik nöronların uçlarında bulunur ve serotonin salınımının otoregülasyonunda görevlidir. Duygu durum, motor fonksiyonlar ve bilinç durumu ile ilişkilendirilmiştir^{88, 89}. Ayrıca insan koroner arterlerinin, pulmoner arterlerin serebral arterlerin, diğer kan damarlarının ve farklı türlerin kan damarlarının düz kas tabakasında bulunarak serotoninle uyarılan vazokonstriksiyona aracılık ettiği gösterilmiştir^{90, 91, 92, 93}. Endotelial hücrelerde bulunan 5-HTR_{1B} reseptörünün sitimülasyonu ile ise NO bağımlı vasodilatasyon oluştuğu düşünülmektedir¹².

5-HTR₂'leri 5-HTR_{2A}, 5-HTR_{2B} ve 5-HTR_{2C} olarak 3 farklı alttipden oluşur. Bir çalışmada insan pulmoner arteri ve aortun düz kas hücrelerinde 5-HTR_{2A} reseptörü mesajcı RNA (mRNA)'sı bulunmuştur⁹⁴. 5-HTR_{2A} reseptörünün, serotoninin vazokonstriktör cevabına aracılık ettiği ve platelet agregasyonunda rol aldığı tespit edilmiştir.

5-HTR₃ reseptör antagonistlerinin myokard enfarktüsündeki ağrıda klinik potansiyeli olabileceği düşünülmektedir⁹⁵. Erişkin kalp atriyumlarında serotonin, 5-HTR₄ reseptörlerinin stimülasyonu ile pozitif kronotropik ve inotropik etkiler oluştuğu gözlenmiştir⁹⁶. SSS ve kardiyovasküler sistemde etkileri fazlası ile çalışılan ve araştırılan serotonin ve reseptörleri daha farklı çalışma alanlarında da karşımıza çıkmaktadır. Osteoblast proliferasyonunda, karaciğer rejenerasyonunda, alyuvar proliferasyonunda, insülin salınımında ve immun yanıtta çalışmalar mevcuttur⁹⁷⁻¹⁰⁶.

2.4.2. 5-HTR₇

5-HTR₇ serotonin reseptörlerinden en son keşfedilenidir. 1993'te farklı laboratuvarlarda fare sıçan, guinea pig ve insan gibi 50'den fazla canlıda klonlanmıştır¹⁰⁷⁻¹¹³. İnsan 5-HTR₇ reseptörü 445 aminoasitten oluşan bir proteindir. 39-53 % oranında 5-HTR₁, 5-HTR₂, 5-HTR₅, and 5-HTR₆ reseptörleri ile homoloji gösterir. 5-HT₇R geni 10.kromozomda q21-q2 bölgesinde lokalizedir¹¹⁴. Sıçanda 5-HTR_{7(a), (b), (c), (e)R} ve insanda 5-HTR_{7(a), (b),(d)} gibi splice varyantları tanımlanmıştır¹¹⁵. 5-HTR₇ reseptörü Gstimulatör (Gs)-proteinler aracılığıyla adenilat siklaz üzerinden etkisini gösterir¹¹⁰. Santral sinir sistemi ve periferel dokulardan eksprese edilir. Santral sinir sisteminde talamus, hipotalamus (suprakiazmatik nükleus dâhil), serebral korteks (piramidal ve GABAerjik nöronlarda), amigdala ve dorsal raphede bulunduğu gösterilmiştir^{14, 15}. Serebellumda özellikle purkinje nöronlarında lokalizedir¹¹⁶. Periferde kan damarlarının özellikle pulmoner, koroner ve aort gibi düz kas hücrelerinde bulunurken, gastrointestinal sistemde peristaltizmde ilgili oldukları bulunmuştur^{90, 94, 117}. 5-HTR₇'nin düz kas gevşemesindeki rolü göz önüne alınarak, irritabl barsak sendromu ve anjina gibi hastalıklarda kalıtımla ilişkisi olabileceği öne sürülmüştür¹¹⁸. İnsan ve sıçan timus, dalak, periferel lenfositler ve mitojenle aktive dalak hücreleri gibi immun dokularında 5-HTR₇ mRNA'sı gösterilmiştir. 5-HTR₇ reseptör stimülasyonunun, 5-HT aracılığı ile T hücrelerinin aktivasyonuna ve fonksiyonlarına katkıda bulunabileceği yapılan çalışmalar arasındadır¹¹⁹.

Yapılan çeşitli radyoligand ve otoradyografi çalışmalarında 5-HTR₇ beyinde kortikal bölge, striatum, talamus, hipokampus, amigdala, diensefalon, serebellum ve özellikle ısı düzenlenmesi ve ateş merkezi olan hipotamus hücrelerinde de yer almaktadır^{14, 16, 17}.

2.4.3. 5-HTR₇ Agonist ve Antagonistleri

Spesifik agonist, antagonist ve geni silinmiş farelerin kullanımı ile 5-HTR₇'nin patolojik olaylardaki rolleri tanımlanmıştır¹²⁰. Reseptör dağılım çalışmaları ve farmakolojik çalışmalar 5-HTR₇'nin ısı düzenleme ve sirkadiyen ritmin kontrolünde rolü olabileceğini göstermiştir^{21, 121, 122}. 5-HTR₇^{-/-} fare ile yapılan çalışmalar 5-HTR₇'nin öğrenme ve hafızada rolü olduğunu göstermiştir^{15, 123, 124}. Pavlov'un öğrenme testi aracılığı ile hafızada 5-HTR₇ antagonistleri çalışılmıştır¹²⁵. 5-HTR₇ agonistlerinin yaşa bağlı hafıza azalması ve Alzheimer Hastalığında potansiyel kullanıma sahip olabileceği de belirtilmiştir¹²⁶. Fakat sonradan yapılan çalışmalarda bu görüş değişmiştir¹²⁷. Yapılan çalışmalarda 5-HTR₇'nün depresyonda ve suprakiazmatik çekirdek nöronlarının modülasyonu ile uykunun rapid eye movement (REM) döneminin aktivasyonuna etkisi gösterilmiştir^{128, 129}. Selektif 5-HTR₇ ligandlarının ağrı, migren, şizofreni, anksiyete, öğrenme bozuklukları ve inflamasyonda potansiyel terapötik etkilerini göstermiştir¹⁵.

Kim ve arkadaşları, yaptıkları bir çalışmada 5-HTR₇ antagonistlerinin kolitte ve buna bağlı oluşan immun cevapta rollerini çalışarak, inflamatuvar barsak hastalığı gibi hastalıklarda etkileri olabileceğini öne sürmüşlerdir¹³⁰.

Çadircı ve arkadaşları, sepsis çalışması ile inflamasyonda 5-HTR₇ agonist (AS-19) ve antagonistlerinin (SB269970) etkilerini araştırmışlar, agonist kullanımının inflamatuvar cevabı azaltabileceğini göstermişlerdir¹³¹.

Albayrak ve arkadaşları, sıçanlarda karageninle oluşturulan pençe ödeminde indometazin, 5-HTR₇ agonist (AS-19) ve antagonistlerinin (SB269970) etkilerini çalışmışlardır. Özellikle agonist verilen gruplarda antiinflamatuvar ve antioksidan etkiler olabileceğini gözlemlemişler ve inflamasyonda 5-HTR₇ lerinin etkilerine dikkat çekmişlerdir¹³².

Peter ve arkadaşları, farelerde yaptığı bir çalışmada; farelerde 8-hidroksi-2-(di-npropilamino) tetralin (8-OH-DPAT) olarak adlandırılan 5-HTR_{1A/7} agonistinin düşük dozunun ip uygulamasının vücut sıcaklığını azalttığını, bu etkinin 5-HTR₇ +/+ farelerde gözlemlenirken 5-HTR₇ -/- farelerde gözlemlenmediğini göstermişlerdir(25). Bu etkiyi 5-HTR₇ antagonisti olan (R)-3-(2-(2-(4-metilpiperidin-1-yl)-etil)pirolidine-1-sulfonyl) fenol (SB-269970)' nin ip uygulamasının inhibe ettiği aynı çalışmada gösterilmiştir¹⁸.

Vladimir ve arkadaşları farelerde yaptıkları bir çalışmada 5-HTR_{1A/7} agonisti olan 8-OH-DPAT'ın ip uygulamasının ve selektif serotonin 5-HTR₇ receptor agonisti olan (4-[2-(metiltio)phenyl]-N-(1,2,3,4-tetrahidro-1-naphthalenyl)-1-piperasinheksanamid hidroklorid (LP44)'in intraserebroventricular uygulamasının vücut sıcaklığını düşürdüğünü ve selektif 5-HTR₇ reseptör antagonisti olan SB 269970'ün ip uygulamasının bu etkiyi inhibe ettiklerini göstermişlerdir¹⁹.

Faure ve arkadaşları sıçanlarda yaptıkları bir çalışmada 5-HTR_{1A/7} reseptör agonisti 8-OH-DPAT'ın subkutan uygulamasının hipotermiye neden olduğu, selektif 5-HTR₇ antagonisti olan SB-269970'nin ip uygulamasının ise bu etkiyi inhibe ettiğini göstermişlerdir²⁰.

Guscott ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada ise 5-HTR_{1A}, 5-HTR_{1B}, 5-HT_{1D}, 5-HTR_{5A}, and 5-HTR₇ lerinin agonisti olan 5-carboxamidotryptamine (5-CT)'nin ip olarak verildiğinde farelerde vucüt ısını düşürdüğünü, bu etkinin 5-HTR₇ antagonisti olan SB-269970'nin ip olarak verilmesi ile inhibe edildiğini göstermişlerdir²¹.

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

Çalışma, Deneysel Araştırma ve Uygulama Merkezi (ATADEM), Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı ve Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı laboratuvarında yapıldı.

3.1.1 Çalışmada Kullanılan Deney Hayvanları

Çalışma Atatürk Üniversitesi' ne ait Deneysel Araştırma ve Uygulama Merkezi (ATADEM) laboratuvarından alınan ağırlıkları 25-30 gr arasında olan 90 adet Balb/c cinsi erkek fare ile yapıldı. Farelere yeteri kadar (ad libitum) su ile birlikte pellet yem verildi. Deney öncesinde farelerin normal oda sıcaklığında (22°C) kafeslerde gruplar oluşturulmak üzere barınması sağlandı. Çalışmamızın etik kural izni "Atatürk Üniversitesi bünyesinde yer alan Hayvan Deneyleeri Yerel Etik Kurulu'dan 02.06.2017 tarihli ve 42190979-000-E.1700108075 sayılı belge ile onaylandı.

3.1.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler

LPS: E. coli O55:B5 (lot: 56H4096, Sigma), serotiplerinden fenol ekstraksiyonu yöntemi ile elde edilmiş LPS ler kullanıldı. Tüm LPS ler aseptik bir ortamda, steril apirojenik fizyolojik serum içinde 2 mg/ml konsantrasyonda dilue edildiler ve - 20°C de muhafaza edildi. LPS 10 mikrogram/kilogram ($\mu\text{g}/\text{kg}$) dozda intraperitoneal (ip) yolla enjekte edildi. Dilusyon için steril apirojenik fizyolojik tuzlu su kullanıldı.

3.1.2. Kullanılan İlaçlar ve İlaçların Hazırlanışı

3.1.2.1. Kullanılan İlaçlar

Kullanılan İlaç	Firma
LPS	Sigma
5-HTR ₇ agonisti (AS 19)	Sigma

5-HTR ₇ antagonisti (SB269970)	Sigma
Tiyopental Na (Pental Sodyum IV flakon)	İ.E. Ulagay İlaç Sanayi Türk A.Ş. İstanbul, Türkiye
Parasetamol (Perfalgan 10 mg/ml infüzyon solüsyonu)	Bristol-Myers Squibb İlaçları Inc. İstanbul, Türkiye

3.1.2.2. İlaçların Hazırlanışı

LPS: LPS için çözücü olarak pyrogen free saline (PFS) kullanıldı. 0.1 ml'sinde 0,25 µg madde olacak şekilde hazırlanıp, intraperitoneal (ip) olarak farenin ağırlığına ve grubuna göre hesaplanarak verildi (Örneğin 30 gr fare için 10 µg/kg LPS vermek için (10 ünite=0,25 µg LPS/mouse). Bu maddenin daha önceki yapılan ateş çalışmalarında kullanılan dozu 10 µg/kg olduğu için bu doz tercih edildi¹³³.

Parasetamol: Çalışmada, hazır infüzyon solüsyonu 160 mg/kg dozda olacak şekilde 0,5 ml ip yoldan enjektör yardımıyla verildi¹³⁴.

5-HTR₇ agonisti: AS 19 için çözücü olarak % 0,1 oranında DMSO kullanıldı. 0.1 ml'sinde 0.3 mg madde olacak şekilde hazırlanıp, ip olarak farenin ağırlığına ve grubuna göre hesaplanarak verildi (Örneğin 30 gr fare için 10 mg agonist grubunda 10 ünite). Bu maddenin daha önceki çalışmalarda kullanılan dozu 10 mg/kg olduğu için agonist dozu 10 mg/kg olarak seçildi¹³⁵.

5-HTR₇ reseptör antagonisti: SB269970 için % 0,1 oranında DMSO kullanıldı. 0.1 ml'sinde 0.3 mg madde olacak şekilde hazırlanıp, ip olarak farenin ağırlığına ve grubuna göre hesaplanarak verildi (Örneğin 30 gram fare için 10 mg antagonist grubunda 10 diziyem). Bu maddenin daha önceki çalışmalarda kullanılan dozu 10 mg/kg olduğu için antagonist dozu 10 olarak seçildi²¹.

Tiyopental: 50mg/kg dozda verildi. Çalışmada anestezi için 25 mg/kg ve ötenazi için 50 mg/kg i.p. olarak uygulandı.

3.1.3. Kullanılan Alet ve Cihazlar

Cihaz Marka	Model
TissueLyser II QIAGEN	Hilden
QIAcube QIAGEN	Hilden
Thermal Cycler Veriti	Applied Biosystems, CA
Epoch spectrophotometer	Biotek, Highland Park
Real-Time PCR	Applied Biosystems, CA
Santrifüj (Soğutmalı)	Hettich Zentrifugen 320R
Manyetik Karıştırıcı	Wisd Wise Stir MSH-20A
Doku Homojenizatörü	Tissue Lyser II Qiagen
Hassas Tartı	Shimadzu ATX 224
Etüv	Memmert WNB 7-4
Karıştırıcı	IKA- MS 3 basic
Ultra Derin Dondurucu (-86°C)	Nuaire NU-9483 E
Dondurucu	Vestel BZP – XL 3402 W
Otomatik Ayarlı Multi Kanallı Pipet	Eppendorf Research (20-300µ)
Pipet takımı	Eppendorf Research
Cerrahi set	F.S.T. Germany
Otoklav	Wac 47 DAIHAN
Dewar transport vessels	LLG
Kafes	Tecniplast

3.2. Metod

3.2.1. Deney Planı

Çalışma 8 deney grubu ve bir kontrol grubu olmak üzere 9 gruptan oluşturuldu. Her grupta 10 adet fare olmak üzere 90 adet erkek fare kullanıldı. Deneye başlamadan önce tüm hayvanlar tartılarak aşağıdaki gruplarda belirtilen deney protokollerine alındı.

Deney grupları aşağıdaki gibi planlandı.

Grup I) Sağlıklı (SAĞLIKLI): 0,1 ml %0,1 DMSO ip yoldan verildi.

Grup II) Ateş (LPS): 10 µg/kg LPS ip yoldan verildi.

Grup III) Ateş + Parasetamol (LPS+PARA): 160 mg/kg parasetamol ip yoldan verildikten 30 dk sonra 10 µg/kg LPS ip yoldan verildi.

Grup IV) Ateş + AS 19 (LPS+AGO): 10 mg/kg AS 19 ip yoldan verildikten 30 dk sonra 10 µg/kg LPS ip yoldan verildi.

Grup V) Ateş + SB 269970 (LPS+ANTA): 10 mg/kg SB 269970 ip yoldan verildikten 30 dk sonra 10 µg/kg LPS ip yoldan verildi.

Grup VI) Ateş + AS 19 + SB 269970 (LPS+AGO+ANTA): 10 mg/kg SB 269970 ip yoldan verildikten 10 dk sonra 10 mg/kg AS 19 ip yoldan verildi ve 20 dk sonra 10 µg/kg LPS ip yoldan verildi.

Grup VII) Ateş + AS 19 + Parasetamol (LPS+AGO+PARA): 160 mg/kg parasetamol ip yoldan verildikten 10 dk sonra 10 mg/kg AS 19 ve 20 dk sonra 10 µg/kg LPS ip yoldan verildi.

Grup VIII) Ateş + SB 269970+ Parasetamol (LPS+ANTA+PARA): 160 mg/kg parasetamol ip yoldan verildikten 10 dk sonra 10 mg/kg SB 269970 ip yoldan verildi ve 20 dk sonra 10 µg/kg LPS ip yoldan verildi.

Grup IX) Ateş + AS 19 + SB 269970+ Parasetamol (LPS+AGO+ANTA+PARA): 160 mg/kg parasetamol ip yoldan verildikten 10 dk sonra 10 mg/kg SB 269970 ip yoldan verildi ve 5 dk sonra 10 mg/kg AS 19 ip yoldan verildi ve 15 dk sonra 10 µg/kg LPS ip yoldan verildi.

Fareler tiyopental anestezisi ile öldürülerek; beyin ve kan örnekleri alındı. Farelerin beyin örnekleri moleküler analiz için -80° dondurucuda muhafaza edildi. Donmuş beyin dokularından çıkarılan hipotamuslar azot ile homojenize edildi ve moleküler çalışmalarda kullanıldı^{136, 137}.

3.2.2. Ateş Ölçümü

Deneyler sabah 9⁰⁰ da başlatıldı. Farelerin vücut sıcaklıkları stabil hale gelene kadar beklendikten sonra LPS enjekte edildi. Enjeksiyonu takiben rektal sıcaklık 240 dakika boyunca takip edildi. Ölçümler 30 dk aralıklarla yapıldı. 120.dk da her gruptan 5 fareye cerrahi işlem yapıldıktan sonra her grupta geriye kalan 5 farenin ateş takibi 240.dk ya kadar yapılarak kalan farelere de 240.dk da cerrahi işlem yapılarak deney 240.dk da sonlandırıldı. Kontrol deneylerinde fizyolojik tuzlu su enjekte edildi. Tüm ilaç enjeksiyonları literatüre uyumlu olarak LPS verilmeden önce yapıldı. Deneyler sırasında ortam sıcaklığı 24 –26 °C de arasında tutuldu (fareler için subtermonötral zon) . Ortam sıcaklığının LPS ile oluşan vücut sıcaklığı değişikliklerine olan etkisi gözlemek amacıyla tasarlanan deneyler sırasında ise ortam sıcaklığı 30°C ye yükseltildi (fareler için termonötral zon). Rektal sıcaklık takipleri yapılan bazı deneylerde farelerin kuyruk sıcaklığı da rektal sıcaklık ölçümleri ile eşzamanlı olarak yapıldı. Olası bir tolerans gelişimi riskinden kaçınmak için her hayvana bir defa LPS enjekte edildi. Yapılan deneylerde her fare bir defa kullanıldı. Uygulanan deney protokolü Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Lokal Etik Kurulu tarafından onaylanmıştır.

3.2.3. Moleküler Çalışmalar

Beyin Dokusunda Yapılan Analizler:

-80 °C’de saklanan dokular çıkarıldı. Her grubun hipotamus dokusu sıvı azot ile öğütülerek -80 °C’de muhafaza edildi. Havuz oluşturulan hipotamus doku karışımlarından 20 mg tartıldı ve homojenat tamponuna konarak, buz üzerinde doku parçalayıcı kullanılarak homojenize edildi. Sonra santrifüj yapıldı. Süpernatantlar toplanarak mRNA izolasyonu işlemine tabi tutuldu. Saflaştırılan mRNA lardan komplementer DNA (cDNA) sentezi yapıldı ve moleküler incelemeler için Real Time PCR (RT-PCR) analizi yapıldı. Moleküler çalışmalar için RT-PCR analizinde NMDA-2A, NMDA-2B, IL-6 ve TNF- α ve 5-HTR₇ ekspresyonuna bakıldı. ng cDNA başına ort \pm standart sapma hesaplanarak datalar düzenlendi.

3.2.4. Real Time PCR

RNA izolasyonu doku örneklerinin tartımından sonra RNeasy Mini Kit (Qiagen) İLE QiaCube RNA izolasyon cihazı kullanılarak (Qiagen) yapıldı. Elde edilen mRNA miktarı nano drop spektrofotometri (Biotek, EPOCH Take3) kullanılarak ölçüldü.

Revers Transkriptaz Reaksiyonu ile cDNA Sentezi:

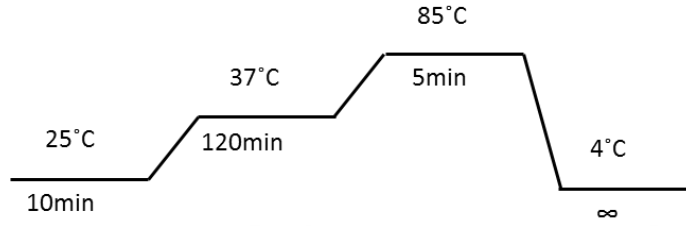
Total RNA’dan cDNA sentez işlemi High Capacity cDNA Reverse Transcription Kit enzimi kullanılarak gerçekleştirildi. Her bir reaksiyon için her bir kuyuya 10 μ l RNA koyularak 96 Well Thermal Cycler (Applied Biosystem) ile aşağıdaki sentez reaksiyon değerlerine uyularak cDNA sentezi sağlandı. Elde edilen cDNA miktarı nano drop spektrofotometri (Biotek, EPOCH Take3) ile ölçüldü ve uygun koşullarda -20 °C’de muhafaza edildi.

cDNA sentez reaksiyonu:

RNA

10 μ l

DEPC - H ₂ O	4,2 µ
Multiscribe Reverse Transcriptase	1 µl
10 X RT Buffer	2 µl
10 X RT Random Primers	2 µl
25 X d NTP s miks	0,8 µl



Real Time PCR kullanılarak 5-HTR₇ Reseptör mRNA Ekspresyonunun Ölçülmesi

Rölatif NMDA-2A, NMDA-2B, IL-6 ve TNF- α ve 5-HTR₇ reseptör mRNA ekspresyonlarını fare hipotalamus dokularında Step One Plus RT-PCR System technology (Applied Biosystem) cihazı ile ölçüldü. İlgili genlerin TaqMan tabanlı primer problemleri Primer Design Ltd. firmasından satın alındı. NMDA-2A Hs01002012, NMDA-2B Hs00168219, Tnf- α için sekans dizilimi f:AGC CAG GAG GGA GAA CAG A r:CAG TGA GTG AAA GGG ACA GAA C, 5-HTR₇ reseptör için f:GACGCTCATCACGCTGCT r:CCA GGG ACA CAA TCA GGT AGT T, IL-6 için f:TCC ATC CAG TTG CCT TCT TG r:GGT CTG TTG GGA GTG GTA TC; Bactin için f:TGGTGGGTATGGGTC AGA AG r: GACAATGCCGTGTTC AATGG'dir. mRNA ekspresyon sonuçlarının değerlendirilmesi kontrol grubu ile karşılaştırılarak rölatif kat uygulamasına göre yapıldı. β -actin endojen kontrol geni olarak kullanıldı ve her bir örnek için üç tekrar yapıldı. 96 kuyucuklu plaklar kullanılarak her bir kuyucuğa 1 µl Primer Perfect Probe miks ve 10 µl QuantiTect Probe PCR Master miks ile birlikte 9 µl cDNA (200 ng) eklenerek toplam, reaksiyon volümü 20 µl ye tamamlandı. Reaksiyon:

2 dk 50°C'de 1 döngü

10 dk 95 °C’de 1 döngü

15 sn 94 °C’de ve 60 sn 60 °C’de 40’ar döngü olarak yürütüldü.

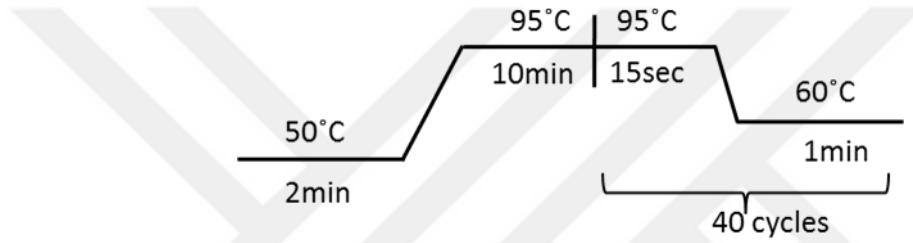
Veri sonuçları $2^{-\Delta\Delta Ct}$ metodu ile kontrol grubuyla karşılaştırılarak hesaplandı.¹³⁸

cDNA (200ng) X µl

TaqMan Master Miks 10 µl

Assay 1 µl

RNase free H₂O ile 20 µl’e tamamlandı.



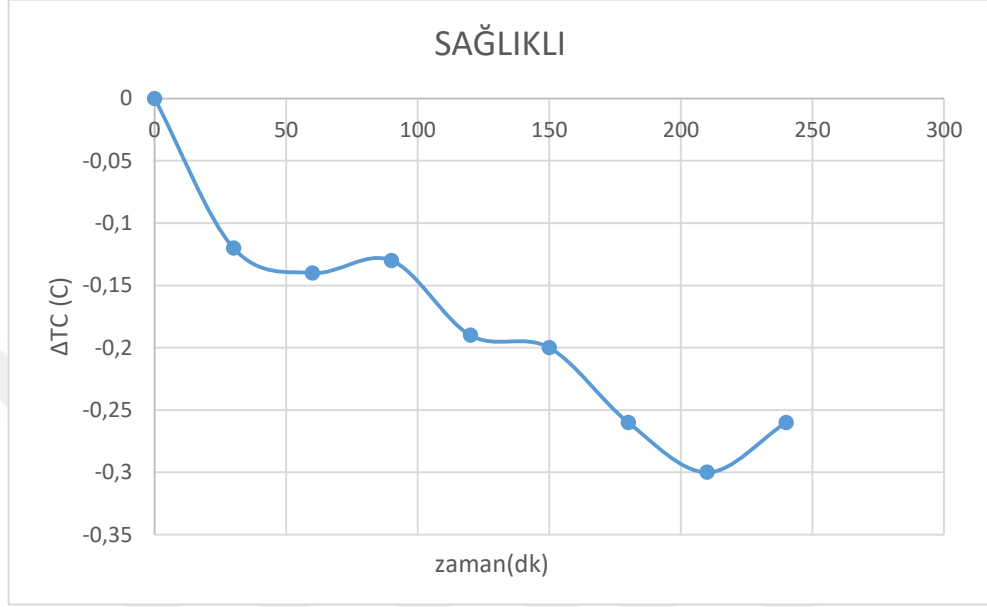
3.3. İstatistiksel Analiz Değerlendirmeleri

Veriler ortalama \pm standart sapma olarak analiz edildi. Gruplar arası normalite Skewness, homojenite ise Levene testleri ile değerlendirildi. Skewness testinde -1 ile +1 arasında olan istatistik değerleri normal dağılım olarak kabul edildi. Skewness testinde veri dağılımı normal olmayan gruplara non-parametrik test olan Kruskal Walls, normal olan gruplara ise parametrik test olan Oneway Anova testi yapıldı. Levene testinde ise $p > 0.05$ değeri olan gruplar homojen olarak kabul edildi. Homojen olan gruplara post hoc test olarak Duncan, homojen olmayan gruplara ise Games-Howell testleri yapıldı. Veriler IBM SPSS Statistics kullanılarak hesaplandı.

4. BULGULAR

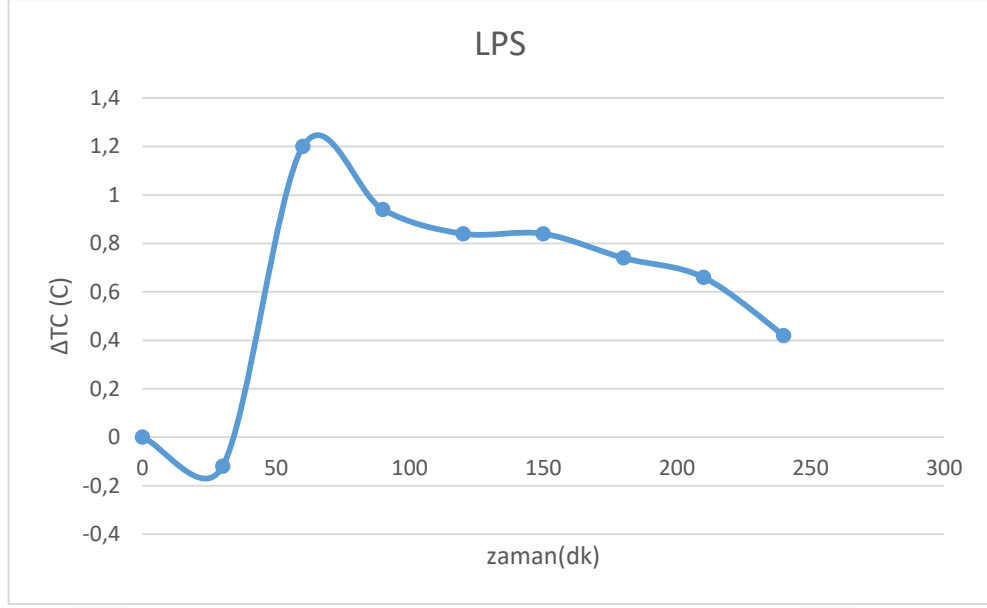
4.1. Ateş

4.1.1. Rektal Ateş Ölçümleri



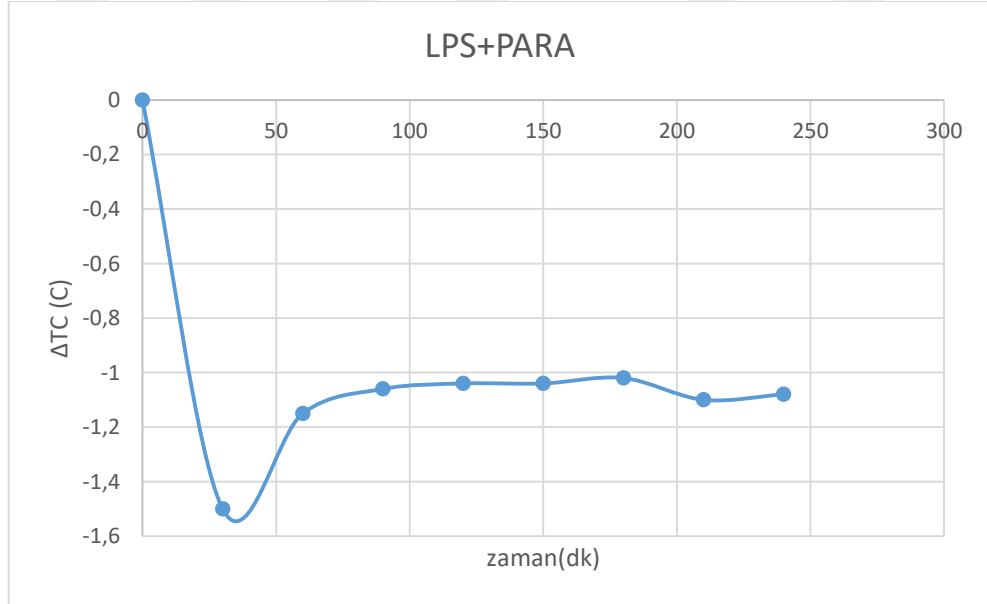
Şekil 4.1.1. SAĞLIKLI gruptaki farelerde 0-240 dk arası rektal vücut sıcaklık farkı ölçüm sonuçları ortalaması ($\Delta T^{\circ}C$ = santigrad cinsinden rektal sıcaklık farkı ortaması)

Deney gruplarında rektal sıcaklık ölçümleri değerlendirildiğinde SAĞLIKLI grupta 0-240 dk lar arasında 30 dk da bir rektal termometre ile alınan ölçümlerde rektal sıcaklık fark ortalamasında 0-0,3 $^{\circ}C$ arasında düşüş olduğu görülmüştür. (şekil 4.1.1)



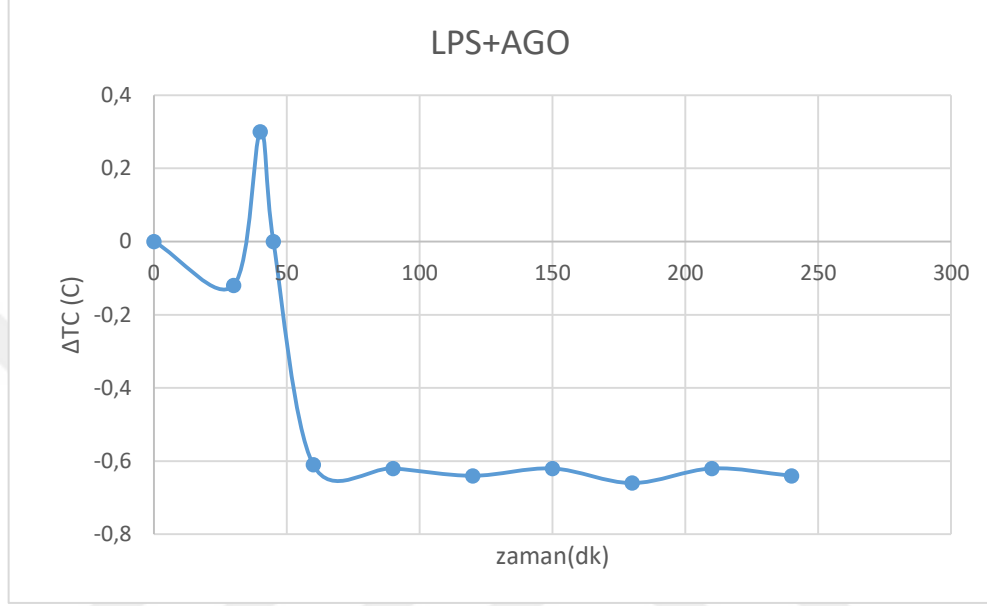
Şekil 4.1.2. LPS grubundaki farelerde 0-240 dk arası rektal vücut sıcaklık farkı ölçüm sonuçları ortalaması (LPS: Lipopolisakkarit $\Delta T^{\circ}C=$ santigrad cinsinden rektal sıcaklık farkı ortaması)

LPS grubunda 240 dk boyunca değerlendirilen rektal sıcaklık fark ortalamasının 30.dkdan sonra arttığı ve bu artışın 240.dk ya devam ettiği görülmüştür (şekil 4.1.2).



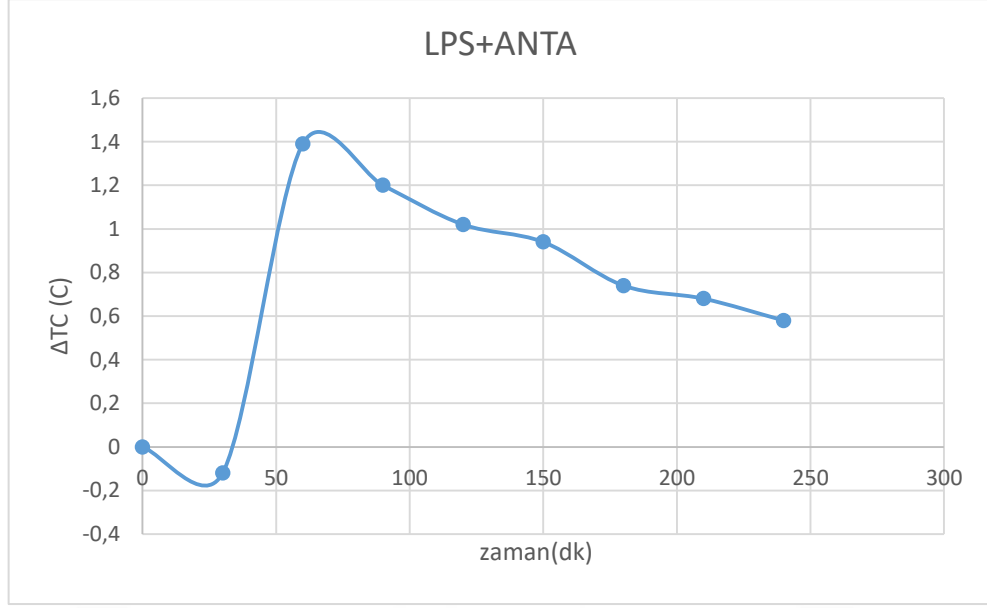
Şekil 4.1.3. LPS+PARA grubundaki farelerde 0-240 dk arası rektal vücut sıcaklık farkı ölçüm sonuçları ortalaması (LPS: Lipopolisakkarit, PARA:Parasetamol, $\Delta T^{\circ}C=$ santigrad cinsinden rektal sıcaklık farkı ortaması)

LPS+PARA grunda 240 dk boyunca değerlendirilen rektal sıcaklık fark ortalaması değerlendirildiğinde; parasetamolün vücut sıcaklığını düşürdüğü ancak 30.dk da uygulanan LPS ile bu düşüşün azaldığı görülmüştür (şekil 4.1.3).



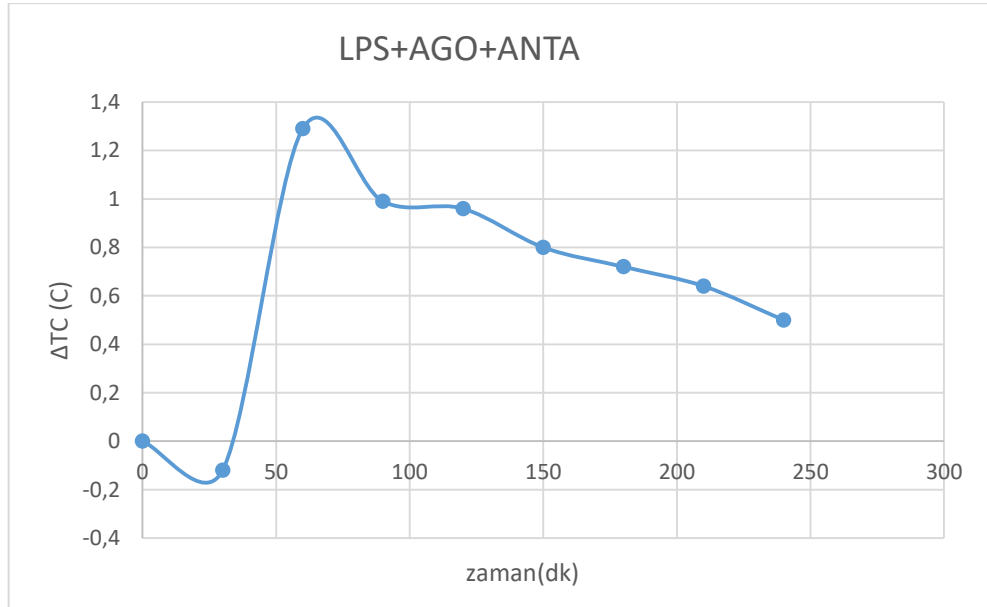
Şekil 4.1.4. LPS+AGO grubundaki farelerde 0-240 dk arası rektal vücut sıcaklık farkı ölçüm sonuçları ortalaması (LPS: Lipopolisakkarit, AGO:5-HT₇ reseptör agonisti, ΔT⁰C= santigrad cinsinden rektal sıcaklık farkı ortaması)

LPS+AGO grubunda 240 dk boyunca değerlendirilen rektal sıcaklık fark ortalaması incelendiğinde LPS+AGO grubunda LPS ile oluşması beklenen ateş piki agonist tarafından önlenmiş ve agonist vücut sıcaklığını düşürmüştür. (şekil 4.1.4)



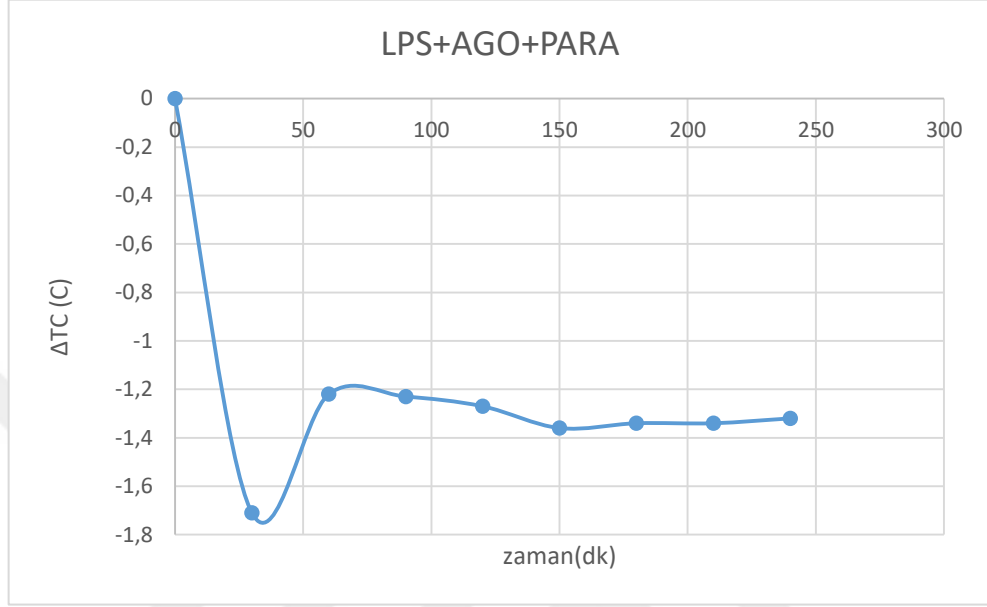
Şekil 4.1.5. LPS+ANTA grubundaki farelerde 0-240 dk arası rektal vücut sıcaklık farkı ölçüm sonuçları ortalaması (LPS: Lipopolisakkarit, ANTA:5-HT₇ reseptör antagonisti, $\Delta T^{\circ}C$ = santigrad cinsinden rektal sıcaklık farkı ortaması)

LPS+ANTA grubunda 240 dk boyunca değerlendirilen rektal sıcaklık fark ortalaması incelendiğinde LPS+ANTA grubunda rektal vücut sıcaklık farkı ortaması LPS grubu ile benzer olarak artış göstermiştir (şekil 4.1.5).



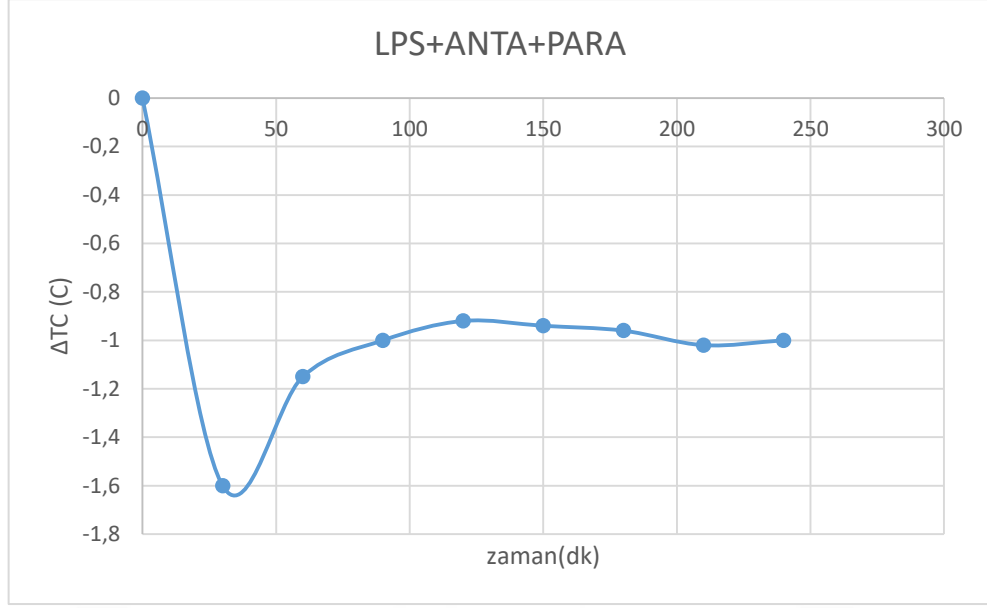
Şekil 4.1.6. LPS+AGO+ANTA grubundaki farelerde 0-240 dk arası rektal vücut sıcaklık farkı ölçüm sonuçları ortalaması (LPS: Lipopolisakkarit, AGO:5-HT₇ reseptör agonisti, ANTA:5-HT₇ reseptör antagonisti, $\Delta T^{\circ}C$ = santigrad cinsinden rektal sıcaklık farkı ortaması)

LPS+AGO+ANTA grubunda 240 dk boyunca değerlendirilen rektal sıcaklık fark ortalaması incelendiğinde LPS+AGO+ANTA grubunda rektal vucut sıcaklık farkı LPS grubu ile benzer olarak artış göstermiştir (şekil 4.1.6).



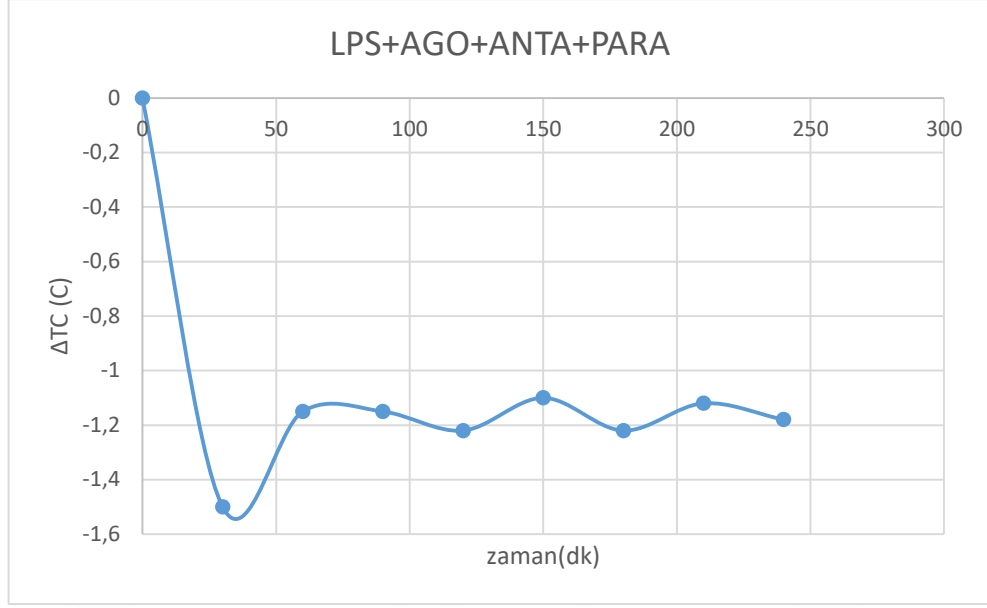
Şekil 4.1.7. LPS+AGO+PARA grubundaki farelerde 0-240 dk arası rektal vucut sıcaklık farkı ölçüm sonuçları ortalaması (LPS: Lipopolisakkarit, PARA:Parasetamol, , AGO:5-HT₇ reseptör agonisti, ΔT⁰C= santigrad cinsinden rektal sıcaklık farkı ortaması)

LPS+AGO+PARA grunda grubunda 240 dk boyunca değerlendirilen rektal sıcaklık fark ortalaması incelendiğinde parasetamol ve agonist rektal vucut sıcaklık farkını düşürmüş ancak 30.dk da uygulanan LPS ile bu düşüş azalmıştır (şekil 4.1.7)



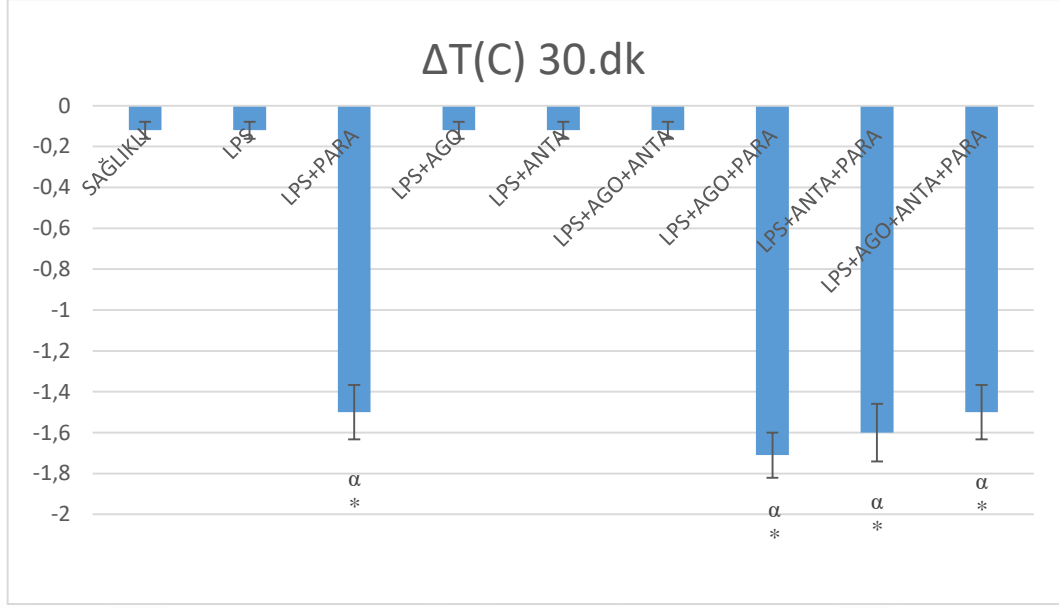
Şekil 4.1.8. LPS+ANTA+PARA grubundaki farelerde 0-240 dk arası rektal vücut sıcaklık farkı ölçüm sonuçları ortalaması (LPS: Lipopolisakkarit, PARA:Parasetamol, ANTA:5-HT₇ reseptör antagonisti, ΔT⁰C= santigrad cinsinden rektal sıcaklık farkı ortaması)

LPS+ANTA+PARA grubunda 240 dk boyunca değerlendirilen rektal sıcaklık fark ortalaması incelendiğinde LPS+ANTA+PARA grubunda parasetamol vücut sıcaklığını düşürmüştü ancak 30.dk da uygulanan LPS ile bu düşüş azalmıştır. LPS+ANTA+PARA grubu rektal sıcaklık fark ortalaması LPS+PARA grubu ile benzerlik göstermektedir. (şekil 4.1.8)



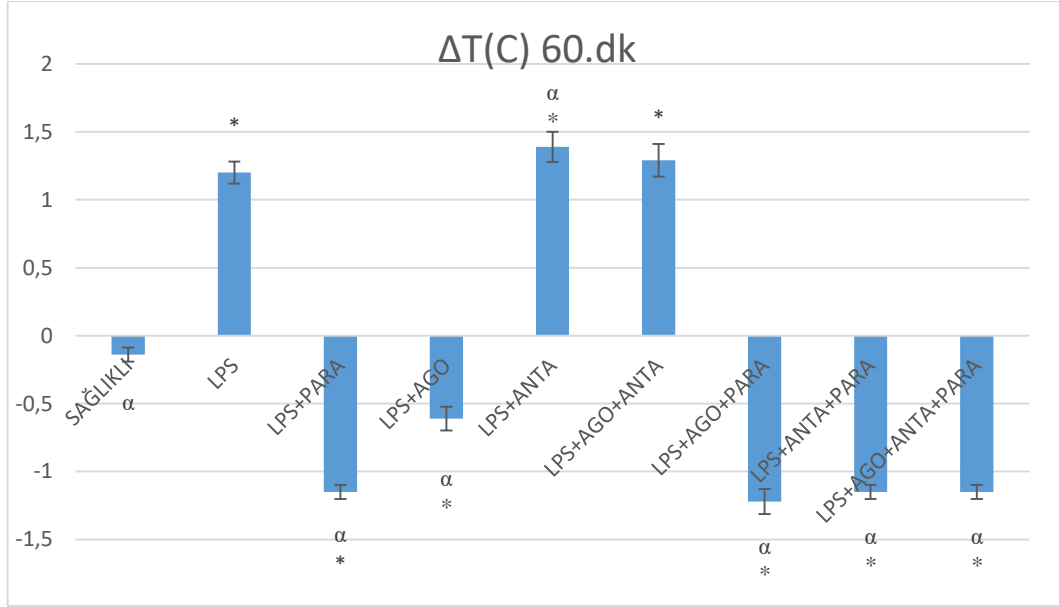
Şekil 4.1.9. LPS+AGO+ANTA+PARA grubundaki farelerde 0-240 dk arası rektal vücut sıcaklık farkı ölçüm sonuçları ortalaması (LPS: Lipopolisakkarit, PARA:Parasetamol, , AGO:5-HT₇ reseptör agonisti, ANTA:5-HT₇ reseptör antagonisti, $\Delta T^{\circ}C$ = santigrad cinsinden rektal sıcaklık farkı ortaması)

LPS+AGO+ANTA+PARA grubunda 240 dk boyunca değerlendirilen rektal sıcaklık fark ortalaması incelendiğinde LPS+AGO+ANTA+PARA grubunda parasetamol vücut sıcaklığını düşürmüştü ancak 30.dk da uygulanan LPS ile bu düşüş azalmıştır. LPS+AGO+ANTA+PARA grubu rektal sıcaklık fark ortalaması LPS+PARA grubu ile benzerlik göstermektedir (şekil 4.1.9).



Şekil 4.1.10. Bütün gruplarda 30.dk ölçülen rektal sıcaklık farkı ortalamaları (LPS: Lipopolisakkarit, PARA:Parasetamol, , AGO:5-HT₇ reseptör agonisti, ANTA:5-HT₇ reseptör antagonisti) İstatistik test olarak One-Way Anova (Tukey) yapıldı. p<0.05 anlamlı olarak değerlendirildi. * işareti SAĞLIKLI gruba göre, α işareti ise LPS grubuna göre anlamlılığı göstermektedir.

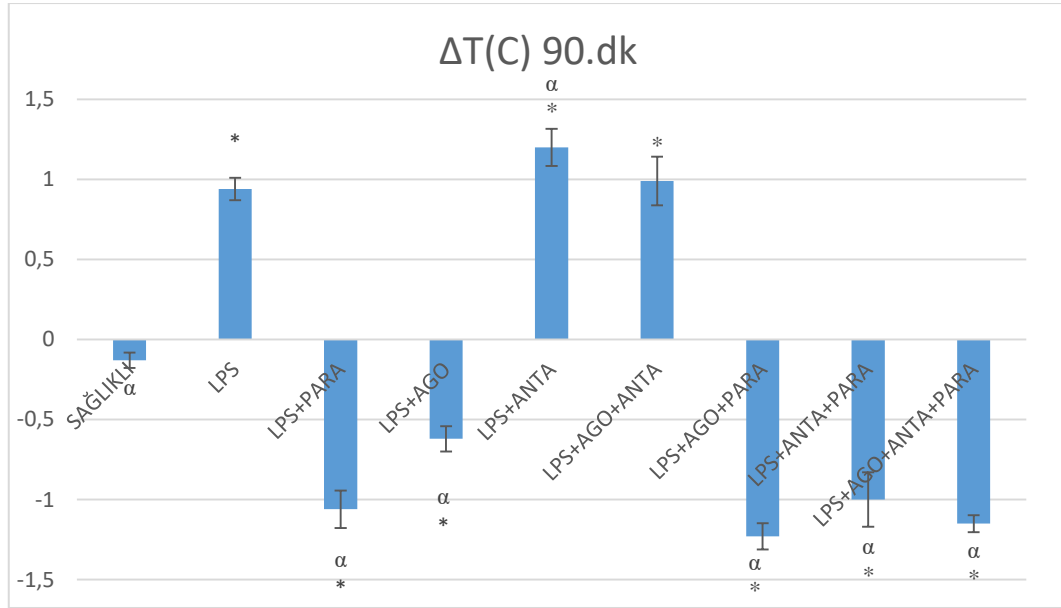
30.dk rektal termometre ile alınan rektal sıcaklık ölçüm fark ortalamaları değerlendirildiğinde (şekil 4.1.10); LPS+PARA grubunda SAĞLIKLI gruba göre rektal sıcaklık fark ortalaması istatiki açıdan anlamlı oranda azalmıştır (p<0,05). LPS+AGO+PARA, LPS+ANTA+PARA ve LPS+AGO+ANTA+PARA grubunda gerçekleşen rektal vucut sıcaklık fark ortalaması düşüşü de 30.dk da alınan ölçümlerde LPS grubuna göre istatiki açıdan anlamlıdır (p<0,05).



Şekil 4.1.11. Bütün gruplarda 60.dk ölçülen rektal sıcaklık farkı ortalamaları (LPS: Lipopolisakkarit, PARA:Parasetamol, AGO:5-HT₇ reseptör agonisti, ANTA:5-HT₇ reseptör antagonisti) İstatistik test olarak One-Way Anova (Tukey) yapıldı. p<0.05 anlamlı olarak değerlendirildi. * işareti SAĞLIKLI gruba göre, α işareti ise LPS grubuna göre anlamlılığı göstermektedir.

60.dk da rektal termometre ile alınan rektal sıcaklık ölçüm farkları değerlendirildiğinde (şekil 4.1.11), LPS grubunda rektal sıcaklık farkı artışı SAĞLIKLI gruba göre istatiki açıdan anlamlı oranda yükselmiş olarak görülmektedir (p<0,05). LPS+PARA grubunda ise rektal sıcaklık farkı LPS grubuna göre istatiki açıdan anlamlı oranda düşmüştür (p<0,05). LPS+AGO grubunda 60.dk da rektal sıcaklık farkı LPS grubuna göre istatiki açıdan anlamlı oranda düşmüş olarak gözlemlenmiştir (p<0,05). 60.dk da alınan ölçümlere göre LPS+ANTA grubunda rektal sıcaklık farkı ortalamasının arttığı ve bu artışın LPS ile benzer olduğu ancak LPS ile oluşturulan sıcaklık artışını şiddetlendirdiği bu nedenle istatiki açıdan da LPS grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı bir artış olduğu görülmüştür (p<0,05). 60.dk da alınan ölçümlere göre LPS+AGO+ANTA grubunda da rektal sıcaklık ortalamasının arttığı ve bu artışın LPS ile benzer olduğu ve istatiki açıdan da LPS grubu ile karşılaştırıldığında anlamsız olduğu görülmüştür (p>0,05). LPS+AGO+PARA, LPS+ANTA+PARA ve LPS+AGO+ANTA+PARA

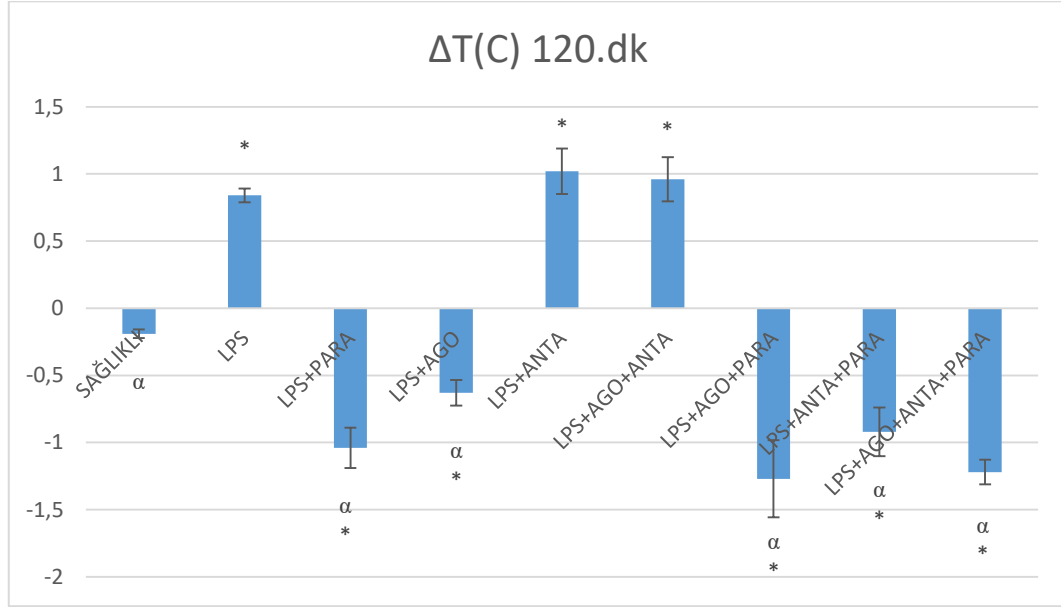
gruplarında 60.dk da rektal vucut sıcaklık ortalamaları değerlendirildiğinde LPS grubuna göre istatiksi açıdan anlamlı oranda düşüş gözlemlenmiştir ($p<0,05$).



Şekil 4.1.12. Bütün gruplarda 90.dk ölçülen rektal sıcaklık farkı ortalamaları (LPS: Lipopolisakkarit, PARA:Parasetamol, , AGO:5-HT₇ reseptör agonisti, ANTA:5-HT₇ reseptör antagonisti) İstatistik test olarak One-Way Anova (Tukey) yapıldı. $p<0,05$ anlamlı olarak değerlendirildi. * işareti SAĞLIKLI gruba göre, α işareti ise LPS grubuna göre anlamlılığını göstermektedir.

90.dk da rektal termometre ile alınan rektal sıcaklık ölçüm farkları değerlendirildiğinde (şekil 4.1.12), LPS grubunda rektal sıcaklık farkı artışı SAĞLIKLI gruba göre istatiki açıdan anlamlı oranda yükselmiş olarak görülmektedir ($p<0,05$). LPS+PARA grubunda ise rektal sıcaklık farkı istatiki açıdan anlamlı oranda düşmüştür ($p<0,05$). LPS+AGO grubunda 90.dk da rektal sıcaklık farkı LPS grubuna göre istatiki açıdan anlamlı oranda düşmüş olarak gözlemlenmiştir ($p<0,05$). 90.dk da alınan ölçümlere göre LPS+ANTA grubunda rektal sıcaklık farkı ortalamasının yükseldiği ve bu yükselmenin LPS ile benzer olduğu ancak istatiki açıdan LPS grubu ile karşılaştırıldığında bu artışın LPS grubuna göre anlamlı bir yükselme olduğu görülmüştür ($p<0,05$). 90.dk da alınan ölçümlere göre LPS+AGO+ANTA grubunda da rektal sıcaklık ortalamasının arttığı ve bu artışın LPS ile benzer olduğu ve istatiki açıdan

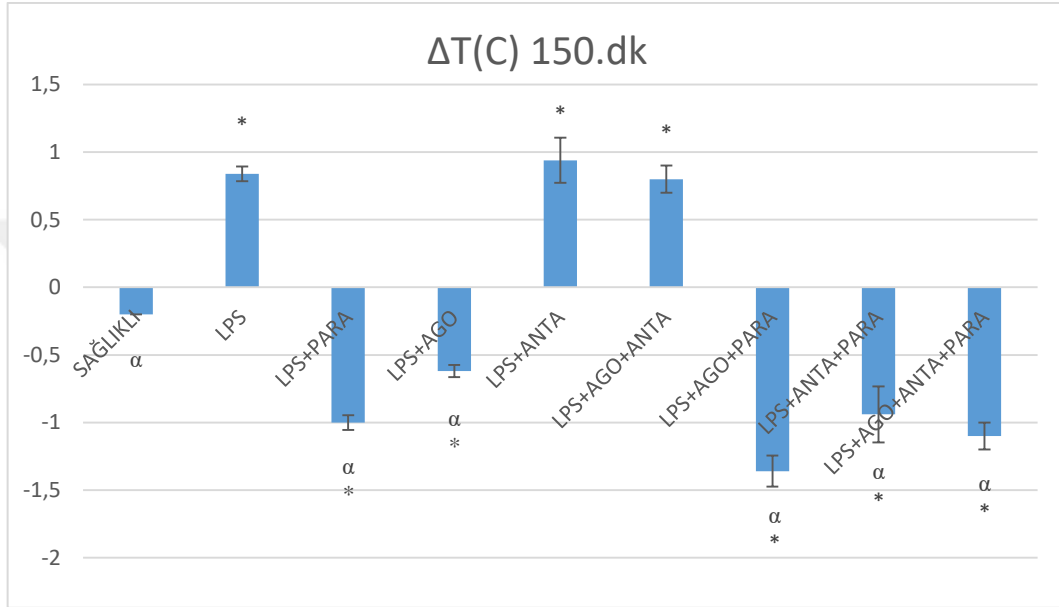
da LPS grubu ile karşılaştırıldığında anlamsız olduğu görülmüştür ($p>0,05$). LPS+AGO+PARA, LPS+ANTA+PARA ve LPS+AGO+ANTA+PARA gruplarında 90.dk da rektal vucut sıcaklık ortalamaları değerlendirildiğinde LPS grubuna göre istatiki açıdan anlamlı oranda düşüş gözlemlenmiştir ($p<0,05$).



Şekil 4.1.13. Bütün gruplarda 120.dk ölçülen rektal sıcaklık farkı ortalamaları (LPS: Lipopolisakkarit, PARA:Parasetamol, , AGO:5-HT₇ reseptör agonisti, ANTA:5-HT₇ reseptör antagonisti) İstatistik test olarak One-Way Anova (Games Howel) yapıldı. $p<0,05$ anlamlı olarak değerlendirildi. * işareti SAĞLIKLI gruba göre, α işareti ise LPS grubuna göre anlamlılığı göstermektedir.

120.dk da rektal termometre ile alınan rektal sıcaklık ölçüm farkları değerlendirildiğinde (şekil 4.1.13), LPS grubunda rektal sıcaklık farkı artışı SAĞLIKLI gruba göre istatiki açıdan anlamlı oranda yükseldiği olarak görülmektedir ($p<0,05$). LPS+PARA grubunda ise rektal sıcaklık farkı LPS grubuna göre istatiki açıdan anlamlı oranda düşmüştür ($p<0,05$). LPS+AGO grubunda 120.dk da rektal sıcaklık farkı LPS grubuna göre anlamlı derecede düşmüş olarak gözlemlenmiştir ($p<0,05$). 120.dk da alınan ölçümlere göre LPS+ANTA grubunda rektal sıcaklık farkı ortalamasının yükseldiği ancak bu yükselmenin LPS ile benzer olduğu ve istatiki açıdan LPS grubu ile karşılaştırıldığında bu artışın LPS grubuna göre anlamsız olduğu olduğu görülmüştür ($p<0,05$). 120.dk da alınan ölçümlere göre LPS+AGO+ANTA grubunda da rektal

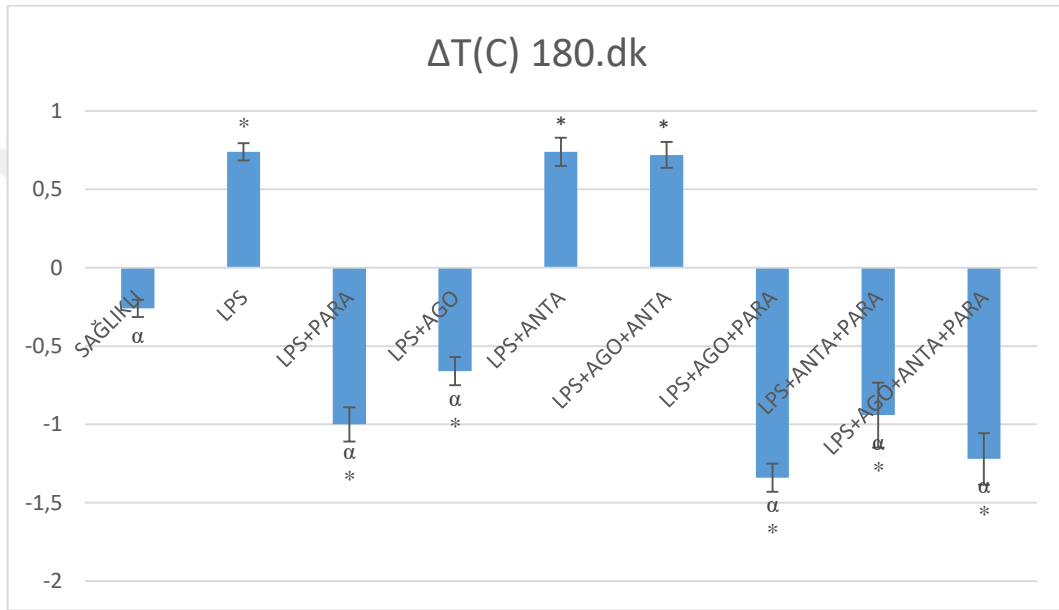
sıcaklık ortalamasının yükseldiği ve bu yükselmenin LPS ile benzer olduğu ve istatiki açıdan da LPS grubu ile karşılaştırıldığında anlamsız olduğu görülmüştür ($p>0,05$). LPS+AGO+PARA, LPS+ANTA+PARA ve LPS+AGO+ANTA+PARA gruplarında 120.dk da rektal vucut sıcaklık ortalamaları değerlendirildiğinde LPS grubuna göre istatiki açıdan anlamlı oranda düşüş gözlemlenmiştir ($p<0,05$).



Şekil 4.1.14. Bütün gruplarda 150.dk ölçülen rektal sıcaklık farkı ortalamaları (LPS: Lipopolisakkarit, PARA:Parasetamol, , AGO:5-HT₇ reseptör agonisti, ANTA:5-HT₇ reseptör antagonisti) İstatistik test olarak One-Way Anova (Games Howel) yapıldı. $p<0,05$ anlamlı olarak değerlendirildi. * işareti SAĞLIKLI gruba göre, α işareti ise LPS grubuna göre anlamlılığı göstermektedir.

150.dk da rektal termometre ile alınan rektal sıcaklık ölçüm farkları değerlendirildiğinde (şekil 4.1.14), LPS grubunda rektal sıcaklık farkı artışı SAĞLIKLI gruba göre istatiki açıdan anlamlı oranda yükselmiş olarak görülmektedir ($p<0,05$). LPS+PARA grubunda ise rektal sıcaklık farkı LPS grubuna göre istatiki açıdan anlamlı oranda düşmüştür ($p<0,05$). LPS+AGO grubunda 120.dk da rektal sıcaklık farkı LPS grubuna göre anlamlı derecede düşmüş olarak gözlemlenmiştir ($p<0,05$). 120.dk da alınan ölçümlere göre LPS+ANTA grubunda rektal sıcaklık farkı ortalamasının arttığı ancak bu artışın LPS ile benzer olduğu ve istatiki açıdan LPS grubu ile karşılaştırıldığında bu artışın LPS grubuna göre anlamsız olduğu olduğu görülmüştür ($p<0,05$). 120.dk da alınan

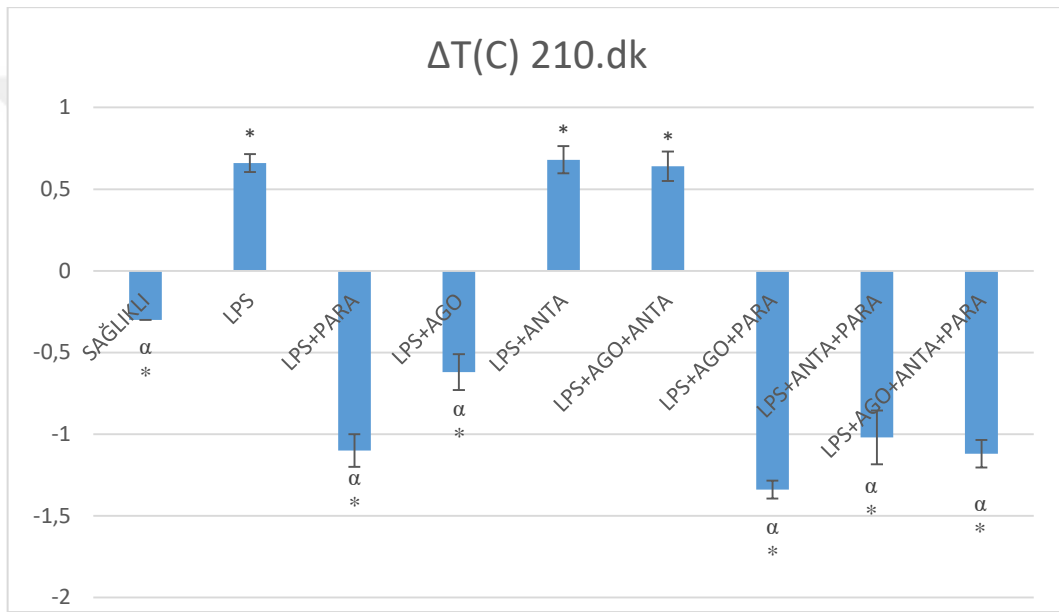
ölçümlere göre LPS+AGO+ANTA grubunda da rektal sıcaklık ortalamasının arttığı ve bu artışın LPS ile benzer olduğu ve istatiki açıdan da LPS grubu ile karşılaştırıldığında anlamsız olduğu görülmüştür ($p>0,05$). LPS+AGO+PARA, LPS+ANTA+PARA ve LPS+AGO+ANTA+PARA gruplarında 150.dk da rektal vucut sıcaklık ortalamaları değerlendirildiğinde LPS grubuna göre istatiki açıdan anlamlı oranda düşüş gözlemlenmiştir ($p<0,05$).



Şekil 4.1.15. Bütün gruplarda 180.dk ölçülen rektal sıcaklık farkı ortalamaları (LPS: Lipopolisakkarit, PARA:Parasetamol, , AGO:5-HT₇ reseptör agonisti, ANTA:5-HT₇ reseptör antagonisti) İstatistik test olarak One-Way Anova (Tukey) yapıldı. $p<0,05$ anlamlı olarak değerlendirildi. * işareti SAĞLIKLI gruba göre, α işareti ise LPS grubuna göre anlamlılığını göstermektedir

180.dk da rektal termometre ile alınan rektal sıcaklık ölçüm farkları değerlendirildiğinde (şekil 4.1.15), LPS grubunda rektal sıcaklık farkı artışı SAĞLIKLI gruba göre istatiki açıdan anlamlı oranda artmış olarak görülmektedir ($p<0,05$). LPS+PARA grubunda ise rektal sıcaklık farkı LPS grubuna göre istatiki açıdan anlamlı oranda düşmüştür ($p<0,05$). LPS+AGO grubunda 180.dk da rektal sıcaklık farkı LPS grubuna göre anlamlı derecede düşmüş olarak gözlemlenmiştir ($p<0,05$). 180.dk da alınan ölçümlere göre LPS+ANTA grubunda rektal sıcaklık farkı ortalamasının arttığı ancak bu artışın LPS ile benzer olduğu ve istatiki açıdan LPS grubu ile karşılaştırıldığında bu

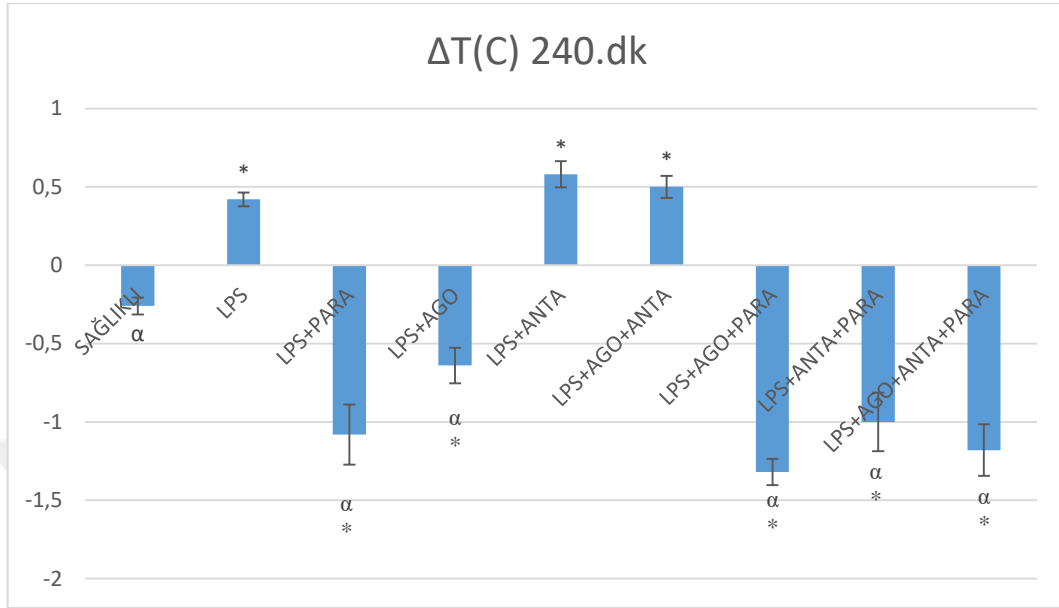
artışın LPS grubuna göre anlamsız olduğu olduğu görülmüştür ($p<0,05$). 180.dk da alınan ölçümlere göre LPS+AGO+ANTA grubunda da rektal sıcaklık ortalamasının arttığı ve bu artışın LPS ile benzer olduğu ve istatiki açıdan da LPS grubu ile karşılaştırıldığında anlamsız olduğu görülmüştür ($p>0,05$). LPS+AGO+PARA, LPS+ANTA+PARA ve LPS+AGO+ANTA+PARA gruplarında 180.dk da rektal vucut sıcaklık ortalamaları değerlendirildiğinde LPS grubuna göre istatiki açıdan anlamlı oranda düşüş gözlemlenmiştir ($p<0,05$).



Şekil 4.1.16. Bütün gruplarda 210.dk ölçülen rektal sıcaklık farkı ortalamaları (LPS: Lipopolisakkarit, PARA:Parasetamol, , AGO:5-HT₇ reseptör agonisti, ANTA:5-HT₇ reseptör antagonisti) İstatistik test olarak One-Way Anova (Games Howel) yapıldı. $p<0,05$ anlamlı olarak değerlendirildi. * işareti SAĞLIKLI gruba göre, α işareti ise LPS grubuna göre anlamlılığı göstermektedir

210.dk da rektal termometre ile alınan rektal sıcaklık ölçüm farkları değerlendirildiğinde (şekil 4.1.13), LPS grubunda rektal sıcaklık farkı artışı SAĞLIKLI gruba göre istatiki açıdan anlamlı oranda artmış olarak görülmektedir ($p<0,05$). LPS+PARA grubunda ise rektal sıcaklık farkı LPS grubuna göre istatiki açıdan anlamlı oranda düşmüştür ($p<0,05$). LPS+AGO grubunda 210.dk da rektal sıcaklık farkı LPS grubuna göre anlamlı derecede düşmüş olarak gözlemlenmiştir ($p<0,05$). LPS+AGO+PARA, LPS+ANTA+PARA ve LPS+AGO+ANTA+PARA gruplarında

210.dk da rektal vucut sıcaklık ortalamaları değerlendirildiğinde LPS grubuna göre istatiki açıdan anlamlı oranda düşüş gözlemlenmiştir ($p<0,05$).

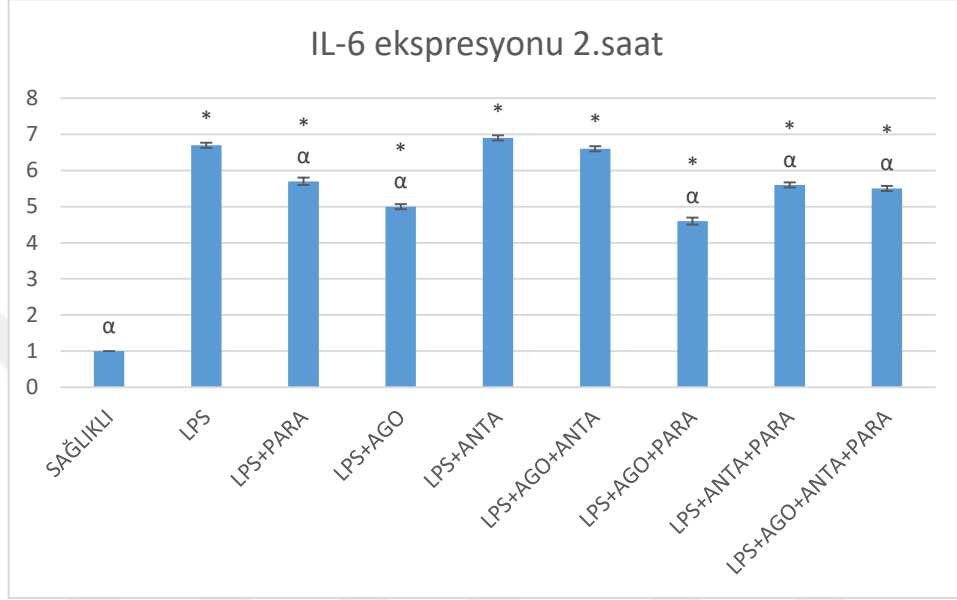


Şekil 4.1.17. Bütün gruplarda 240.dk ölçülen rektal sıcaklık farkı ortalamaları (LPS: Lipopolisakkarit, PARA:Parasetamol, , AGO:5-HT₇ reseptör agonisti, ANTA:5-HT₇ reseptör antagonisti) İstatistik test olarak One-Way Anova (Games Howel) yapıldı. $p<0,05$ anlamlı olarak değerlendirildi. * işareti SAĞLIKLI gruba göre, α işareti ise LPS grubuna göre anlamlılığı göstermektedir.

240.dk da rektal termometre ile alınan rektal sıcaklık ölçüm farkları değerlendirildiğinde (şekil 4.1.13), LPS grubunda rektal sıcaklık farkı artışı SAĞLIKLI gruba göre istatiki açıdan anlamlı oranda artmış olarak görülmektedir ($p<0,05$). LPS+PARA grubunda ise rektal sıcaklık farkı LPS grubuna göre istatiki açıdan anlamlı oranda düşmüştür ($p<0,05$). LPS+AGO grubunda 210.dk da rektal sıcaklık farkı LPS grubuna göre anlamlı derecede düşmüş olarak gözlemlenmiştir ($p<0,05$). 210.dk da alınan ölçümlere göre LPS+ANTA grubunda rektal sıcaklık farkı ortalamasının arttığı ancak bu artışın LPS ile benzer olduğu ve istatiki açıdan LPS grubu ile karşılaştırıldığında bu artışın LPS grubuna göre anlamsız olduğu görülmüştür ($p<0,05$). 210.dk da alınan ölçümlere göre LPS+AGO+ANTA grubunda da rektal sıcaklık ortalamasının arttığı ve bu artışın LPS ile benzer olduğu ve istatiki açıdan da LPS grubu ile karşılaştırıldığında anlamsız olduğu görülmüştür ($p>0,05$). LPS+AGO+PARA, LPS+ANTA+PARA ve

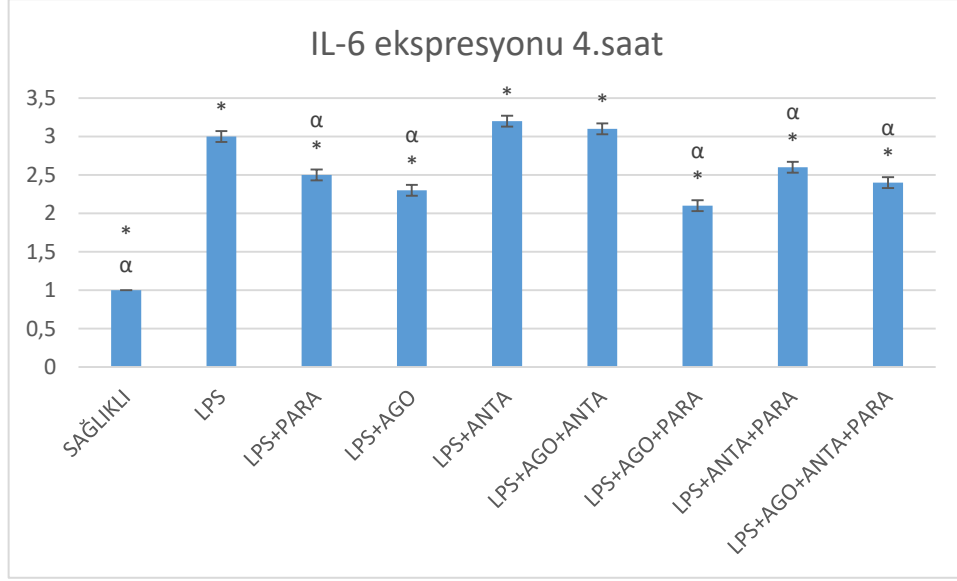
LPS+AGO+ANTA+PARA gruplarında 240.dk da rektal vucut sıcaklık ortalamaları değerlendirildiğinde LPS grubuna göre istatiki açıdan anlamlı oranda düşüş gözlemlenmiştir ($p<0,05$).

4.2. Moleküler Bulgular



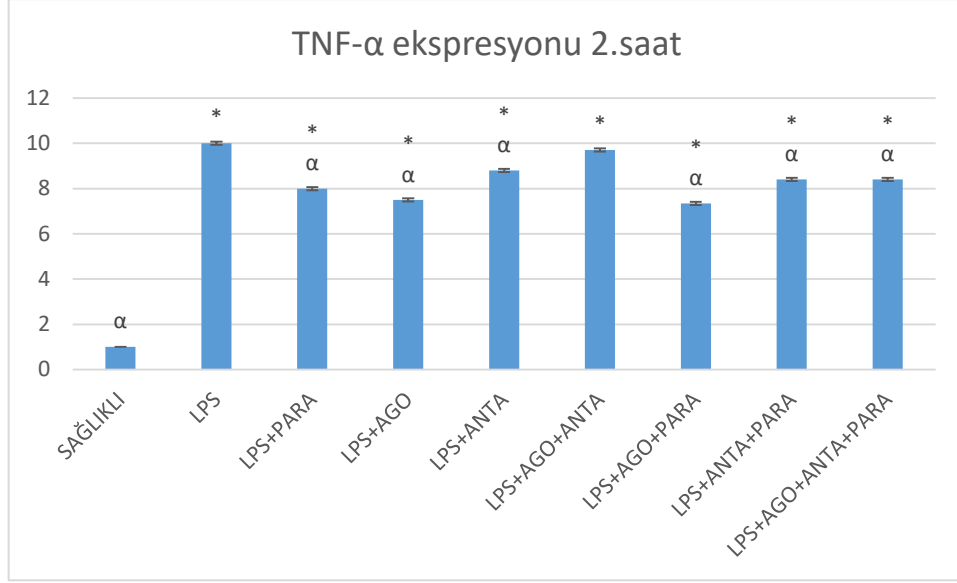
Şekil 4.2. Farelerde 2.saatte alınan hipotalamus doku örneklerindeki IL-6 mRNA seviyeleri (LPS: Lipopolisakkarit, PARA:Parasetamol, , AGO:5-HT₇ reseptör agonisti, ANTA:5-HT₇ reseptör antagonisti) İstatistik test olarak Kruskal Walls ve One-Way Anova (Games Howel) yapıldı. $p<0.05$ anlamlı olarak değerlendirildi. * işareti SAĞLIKLI gruba göre, α işareti ise LPS grubuna göre anlamlılığı göstermektedir.

Deney gruplarından 2.saatte alınan hipotalamus doku örneklerindeki RT-PCR IL-6 mRNA ekspresyonu seviyeleri incelendiğinde; deney gruplarından LPS grubunda IL-6 ekspresyonu SAĞLIKLI gruba göre istatiki açıdan anlamlı artış göstermiştir ($p<0,05$). LPS+PARA, LPS+AGO, LPS+AGO+PARA, LPS+ANTA+PARA ve LPS+AGO+ANTA+PARA grupları LPS grubuna göre istatiki açıdan anlamlı düşüş görülmüştür($p<0,05$). LPS+ANTA ile LPS+AGO+ANTA grubunun verilerinde LPS grubuna göre istatiki açıdan anlamlı bir değişiklik görülmemiştir ($p>0,05$).



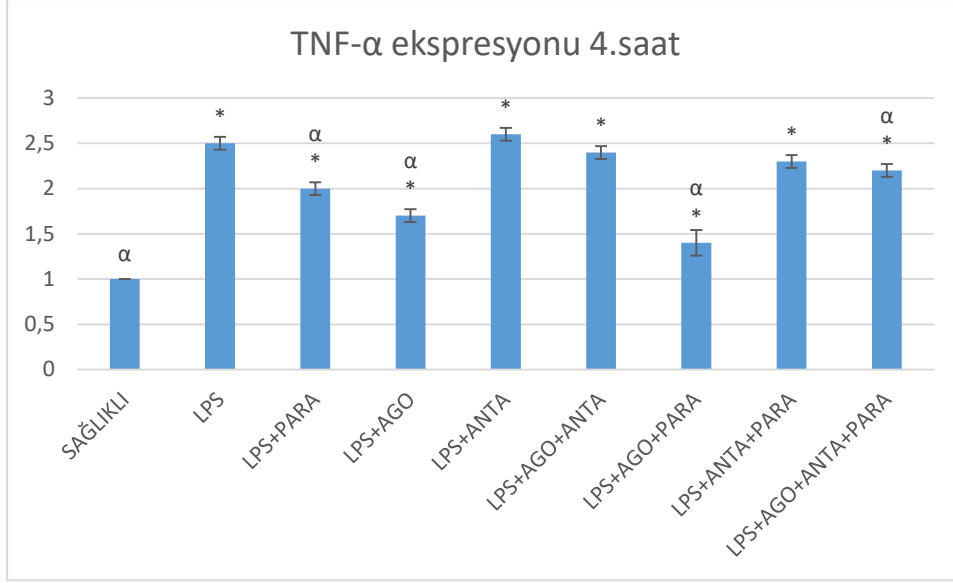
Şekil 4.3. Farelerde 4.saatte alınan hipotalamus doku örneklerindeki IL-6 mRNA seviyeleri (LPS: Lipopolisakkarit, PARA:Parasetamol, , AGO:5-HT₇ reseptör agonisti, ANTA:5-HT₇ reseptör antagonisti) İstatistik test olarak Kruskal Walls ve One-Way Anova (Games Howel) yapıldı. $p < 0.05$ anlamlı olarak değerlendirildi. * işareti SAĞLIKLI gruba göre, α işareti ise LPS grubuna göre anlamlılığı göstermektedir.

Deney gruplarından 4.saatte alınan hipotalamus doku örneklerindeki RT-PCR IL-6 mRNA ekspresyonu seviyeleri incelendiğinde; deney gruplarından LPS grubunda IL-6 ekspresyonu SAĞLIKLI gruba göre istatiki açıdan anlamlı artış göstermiştir ($p < 0,05$). LPS+PARA, LPS+AGO, LPS+AGO+PARA, LPS+ANTA+PARA ve LPS+AGO+ANTA+PARA grupları LPS grubuna göre istatiki açıdan anlamlı düşüş görülmüştür ($p < 0,05$). LPS+ANTA ile LPS+AGO+ANTA grubunun verilerinde LPS grubuna göre istatiki açıdan anlamlı bir değişiklik görülmemiştir ($p > 0,05$).



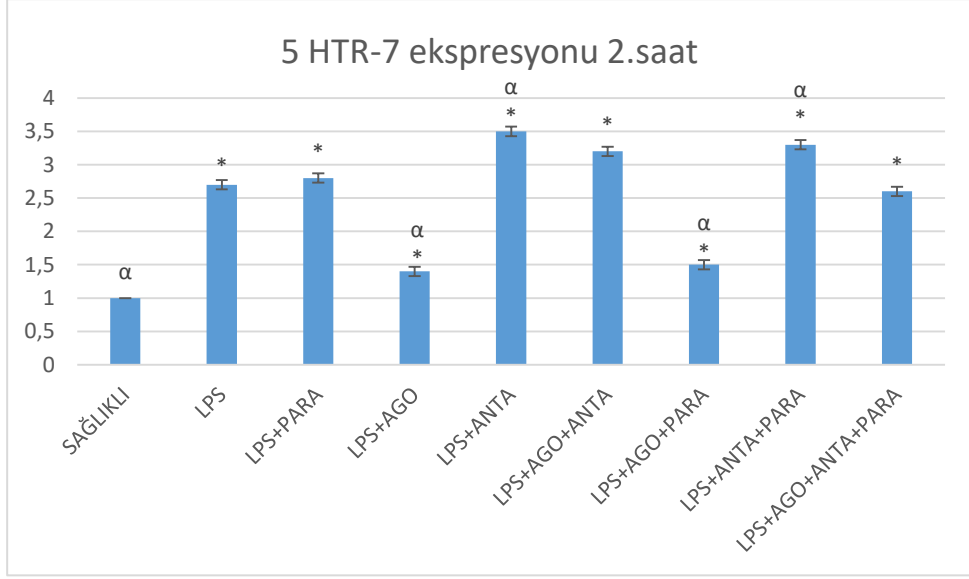
Şekil 4.4. Farelerde 2.saatte alınan hipotalamus doku örneklerindeki TNF- α mRNA seviyeleri (LPS: Lipopolisakkarit, PARA:Parasetamol, , AGO:5-HT₇ reseptör agonisti, ANTA:5-HT₇ reseptör antagonisti) İstatistik test olarak Kruskal Walls ve One-Way Anova (Games Howel) yapıldı. $p < 0.05$ anlamlı olarak değerlendirildi. * işareti SAĞLIKLI gruba göre, α işareti ise LPS grubuna göre anlamlılığı göstermektedir

Deney gruplarından 2.saatte alınan hipotalamus doku örneklerindeki RT-PCR TNF- α mRNA ekspresyonu seviyeleri incelendiğinde; deney gruplarından LPS grubunda TNF- α ekspresyonu SAĞLIKLI gruba göre istatiki açıdan anlamlı artış göstermiştir ($p < 0,05$). LPS+PARA, LPS+AGO, LPS+AGO+PARA, LPS+ANTA+PARA ve LPS+AGO+ANTA+PARA grupları LPS grubuna göre istatiki açıdan anlamlı düşüş görülmüştür ($p < 0,05$). LPS+AGO+ANTA grubunun verilerinde LPS grubuna göre istatiki açıdan anlamlı bir değişiklik görülmemiştir ($p > 0,05$).



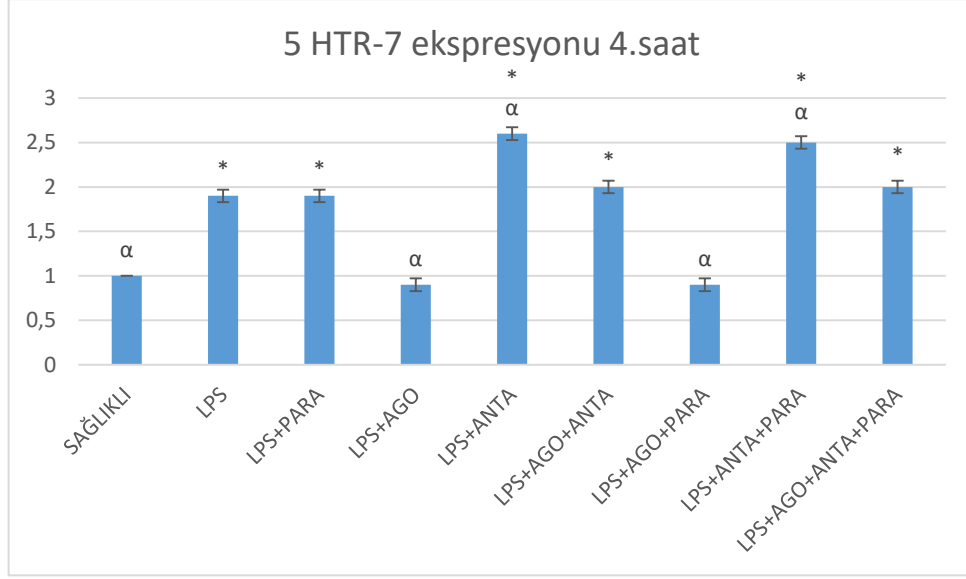
Şekil 4.5. Farelerde 4.saatte alınan hipotalamus doku örneklerindeki TNF- α mRNA seviyeleri (LPS: Lipopolisakkarit, PARA:Parasetamol, , AGO:5-HT₇ reseptör agonisti, ANTA:5-HT₇ reseptör antagonisti) İstatistik test olarak One-Way Anova (Tukey) yapıldı. $p < 0.05$ anlamlı olarak değerlendirildi. * işareti SAĞLIKLI gruba göre, α işareti ise LPS grubuna göre anlamlılığı göstermektedir.

Deney gruplarından 4.saatte alınan hipotalamus doku örneklerindeki RT-PCR TNF- α mRNA ekspresyonu seviyeleri incelendiğinde; deney gruplarından LPS grubunda TNF- α ekspresyonu SAĞLIKLI gruba göre istatiki açıdan anlamlı artış göstermiştir ($p < 0,05$). LPS+PARA, LPS+AGO, LPS+AGO+PARA ve LPS+AGO+ANTA+PARA grupları LPS grubuna göre istatikselsel olarak anlamlı düşüş görülmüştür ($p < 0,05$). LPS+ANTA, LPS+AGO+ANTA ve LPS+ANTA+PARA grubunun verilerinde LPS grubuna göre istatiki açıdan anlamlı bir değişiklik görülmemiştir ($p > 0,05$).



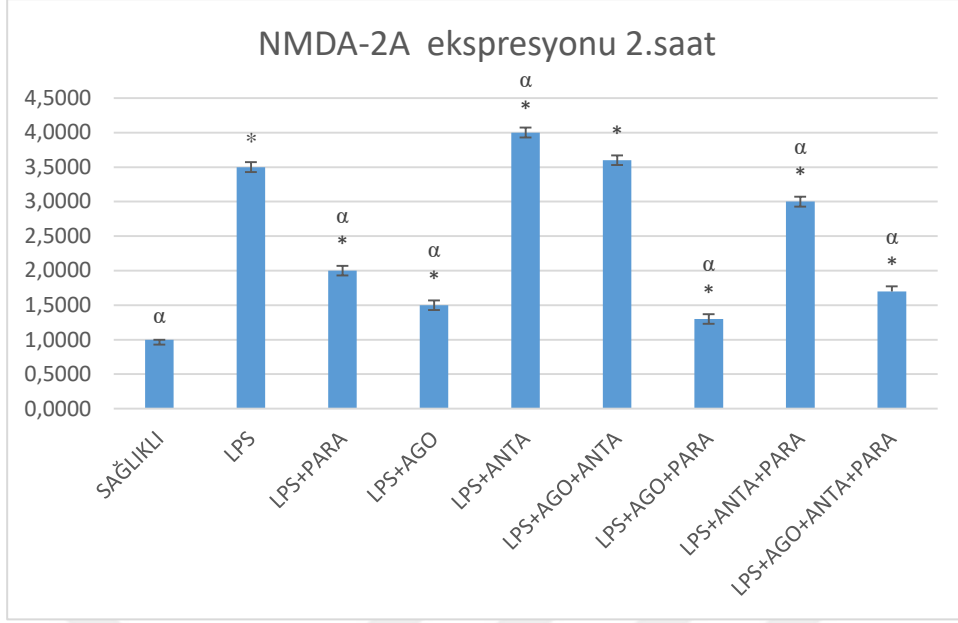
Şekil 4.6. Farelerde 2.saatte alınan hipotalamus doku örneklerindeki 5-HTR₇ mRNA seviyeleri (LPS: Lipopolisakkarit, PARA:Parasetamol, , AGO:5-HT₇ reseptör agonisti, ANTA:5-HT₇ reseptör antagonisti) İstatistik test olarak One-Way Anova (Tukey) yapıldı. $p < 0.05$ anlamlı olarak değerlendirildi. * işareti SAĞLIKLI gruba göre, α işareti ise LPS grubuna göre anlamlılığı göstermektedir.

Deney gruplarından 2.saatte alınan hipotalamus doku örneklerindeki RT-PCR 5-HTR₇ ekspresyonu seviyeleri incelendiğinde LPS grubunda SAĞLIKLI gruba göre istatiki açıdan anlamlı bir artış görülmektedir ($p < 0,05$). LPS+AGO ve LPS+AGO+PARA gruplarında LPS grubuna göre istatiki açıdan anlamlı bir düşüş görülmüştür ($p < 0,05$). LPS+ANTA ve LPS+ANTA+PARA gruplarında ise LPS grubuna göre istatiki açıdan anlamlı bir artış görülmüştür ($p < 0,05$). LPS+PARA, LPS+AGO+ANTA ve LPS+AGO+ANTA+PARA grubunda ise LPS grubuna göre istatiki açıdan anlamlı bir değişiklik görülmemiştir ($p > 0,05$).



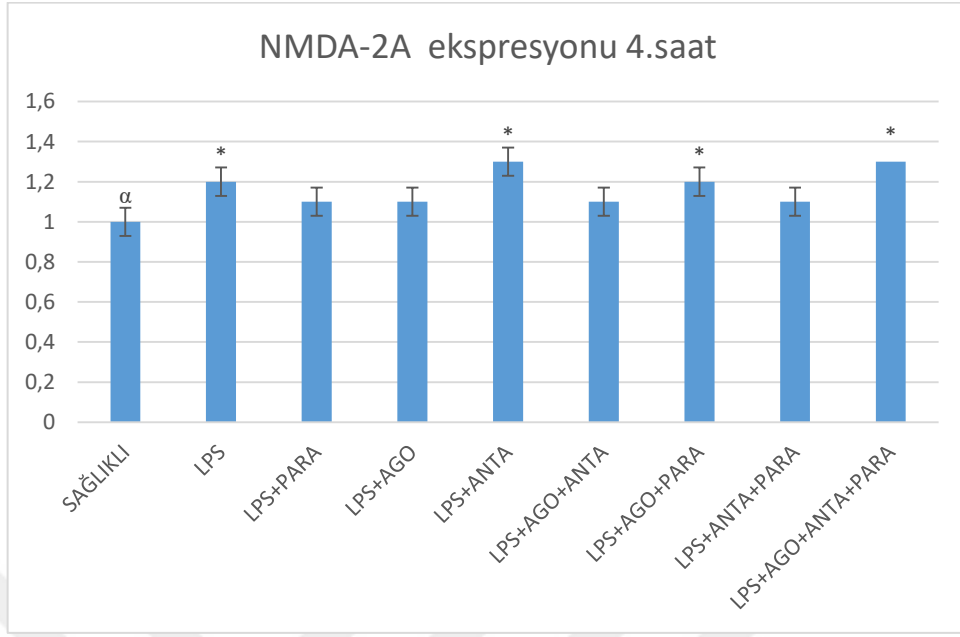
Şekil 4.7. Farelerde 4.saatte alınan hipotalamus doku örneklerindeki 5 HTR7 mRNA seviyeleri (LPS: Lipopolisakkarit, PARA:Parasetamol, , AGO:5-HT₇ reseptör agonisti, ANTA:5-HT₇ reseptör) İstatistik test olarak One-Way Anova (Tukey) yapıldı. $p < 0.05$ anlamlı olarak değerlendirildi. * işareti SAĞLIKLI gruba göre, α işareti ise LPS grubuna göre anlamlılığı göstermektedir.

Deney gruplarından 4.saatte alınan hipotalamus doku örneklerindeki RT-PCR 5-HTR₇ ekspresyonu seviyeleri incelendiğinde LPS grubunda SAĞLIKLI gruba göre istatiki açıdan anlamlı bir artış görülmektedir ($p < 0,05$). LPS+PARA, LPS+AGO+ANTA ve LPS+AGO+ANTA+PARA gruplarında ise LPS grubuna göre istatiki açıdan anlamlı bir değişiklik görülmemiştir ($p > 0,05$). LPS+AGO ve LPS+AGO+PARA gruplarında LPS grubuna göre istatiki açıdan anlamlı bir düşüş görülmüştür ($p < 0,05$). LPS+ANTA ve LPS+ANTA+PARA gruplarında ise LPS grubuna göre istatiki açıdan anlamlı bir artış görülmüştür ($p < 0,05$).



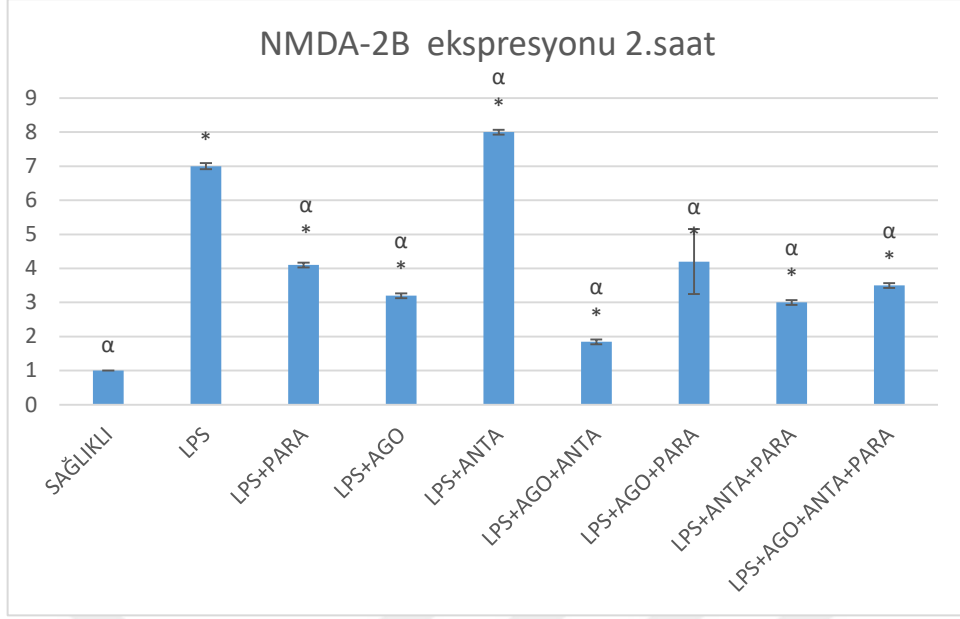
Şekil 4.8. Farelerde 2.saatte alınan hipotalamus doku örneklerindeki NMDA-2A mRNA seviyeleri (LPS: Lipopolisakkarit, PARA:Parasetamol, , AGO:5-HT₇ reseptör agonisti, ANTA:5-HT₇ reseptör antagonisti) İstatistik test olarak One-Way Anova (Tukey) yapıldı. p<0.05 anlamlı olarak değerlendirildi. * işareti SAĞLIKLI gruba göre, α işareti ise LPS grubuna göre anlamlılığı göstermektedir.

Deney gruplarından 2.saatte alınan hipotalamus doku örneklerindeki RT-PCR NMDA-2A ekspresyonu incelendiğinde LPS grubunda SAĞLIKLI gruba göre anlamlı düzeyde yükselmiştir (p<0,05). LPS+AGO, LPS+PARA, LPS+AGO+PARA LPS+ANTA+PARA ve LPS+AGO+ANTA+PARA gruplarında LPS grubuna göre istatiki açıdan anlamlı bir düşüş görülmüştür (p<0,05). LPS+ANTA grubunda ise LPS grubuna göre istatiki açıdan anlamlı bir artış görülmüştür (p<0,05). LPS+AGO+ANTA grubunda ise LPS grubuna göre istatiki açıdan anlamlı bir değişiklik görülmemiştir (p>0,05).



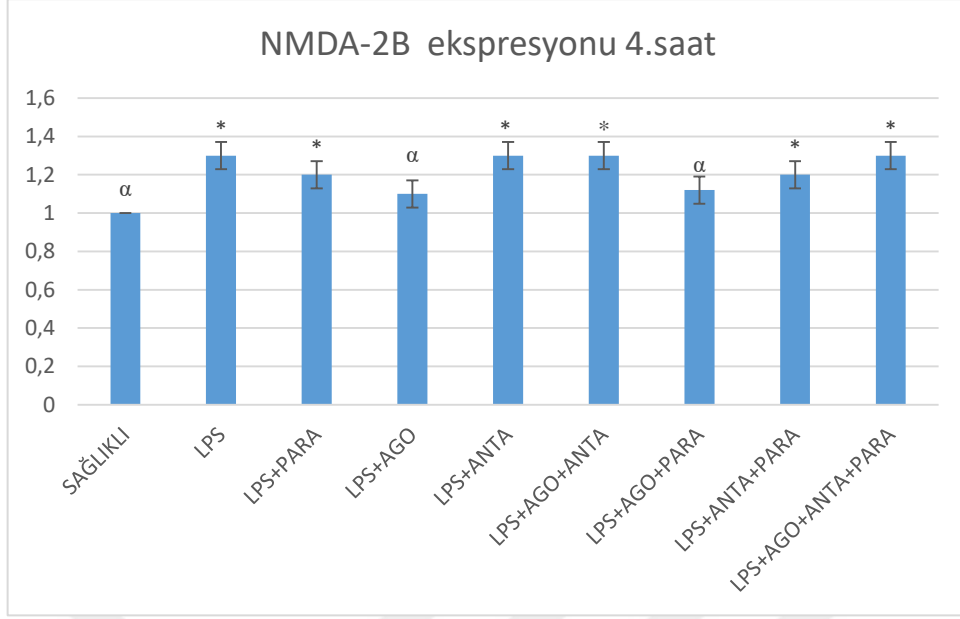
Şekil 4.9. Farelerde 4.saatte alınan hipotalamus doku örneklerindeki NMDA-2A mRNA seviyeleri (LPS: Lipopolisakkarit, PARA:Parasetamol, , AGO:5-HT₇ reseptör agonisti, ANTA:5-HT₇ reseptör antagonisti) İstatistik test olarak One-Way Anova (Tukey) yapıldı. $p < 0.05$ anlamlı olarak değerlendirildi. * işareti SAĞLIKLI gruba göre, α işareti ise LPS grubuna göre anlamlılığı göstermektedir.

Deney gruplarından 4.saatte alınan hipotalamus doku örneklerindeki RT-PCR NMDA-2A ekspresyonu incelendiğinde LPS grubu, SAĞLIKLI gruba göre anlamlı düzeyde yükselmiştir ($p < 0,05$). Bunun dışında LPS grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir duruma rastlanmadı.



Şekil 4.10. Farelerde 2.saatte alınan hipotalamus doku örneklerindeki NMDA-2B mRNA seviyeleri (LPS: Lipopolisakkarit, PARA:Parasetamol, , AGO:5-HT₇ reseptör agonisti, ANTA:5-HT₇ reseptör antagonisti) İstatistik test olarak One-Way Anova (Games Howell) yapıldı. $p < 0.05$ anlamlı olarak değerlendirildi. * işareti SAĞLIKLI gruba göre, α işareti ise LPS grubuna göre anlamlılığı göstermektedir.

Deney gruplarından 2.saatte alınan hipotalamus doku örneklerindeki RT-PCR NMDA-2B ekspresyonu incelendiğinde LPS grubunda SAĞLIKLI gruba göre anlamlı düzeyde yükselmiştir ($p < 0,05$). LPS+AGO, LPS+PARA, LPS+AGO+PARA LPS+ANTA+PARA ve LPS+AGO+ANTA+PARA gruplarında LPS grubuna göre istatiki açıdan anlamlı bir düşüş görülmüştür ($p < 0,05$). LPS+ANTA grubunda ise LPS grubuna göre istatiki açıdan anlamlı bir artış görülmüştür ($p < 0,05$).



Şekil 4.11. Farelerde 4.saatte alınan hipotalamus doku örneklerindeki NMDA-2B mRNA seviyeleri (LPS: Lipopolisakkarit, PARA:Parasetamol, , AGO:5-HT₇ reseptör agonisti, ANTA:5-HT₇ reseptör antagonisti) İstatistik test olarak One-Way Anova (Tukey) yapıldı. $p < 0.05$ anlamlı olarak değerlendirildi. * işareti SAĞLIKLI gruba göre, α işareti ise LPS grubuna göre anlamlılığı göstermektedir.

Deney gruplarından 4.saatte alınan hipotalamus doku örneklerindeki RT-PCR NMDA-2B ekspresyonu incelendiğinde LPS, LPS+PARA, LPS+ANTA, LPS+AGO+ANTA, LPS+ANTA+PARA, LPS+AGO+ANTA+PARA gruplarında SAĞLIKLI gruba göre istatiki açıdan anlamlı düzeyde artış görülmüştür ($p < 0,05$). LPS+AGO ve LPS+AGO+PARA grubunda LPS grubuna göre istatiki açıdan anlamlı bir düşüş görülmüştür ($p < 0,05$).

5.TARTIŞMA

Çalışmamızda hem santral hem de periferik etkileri olan serotoninin, parasetamolün antipiretik etki mekanizmasında santral 5-HTR₇ lerinin muhtemel rollerinin farelerde LPS ile indüklenmiş hipertermi modelinde incelendi. Bu amaçla akut LPS uygulaması ile indüklediğimiz ateş modelinde farelerde 5-HTR₇ reseptör agonist ve/veya antagonisti ve parasetamol verilerek ateş bulguları değerlendirildi.

Vücutta savunma sistemine yanıt olarak vücut sıcaklığında fizyolojik bir yükselme olarak tanımlanan ateş, çeşitli non-enfeksiyöz ve enfeksiyöz etkenlerin vücudun bağışıklık sistemiyle etkileşimiyle meydana gelmektedir³⁴. Deneysel olarak ateş oluşturabilmek için kullanılan ve gram (-) bakteri duvarından elde edilen ve kompleks bir lipid ve polisakkarid karışımı olan LPS hipotalamik düzeyde prostaglandin sentezi artışı yoluyla santral etki mekanizmasıyla pirojenik yanıt oluşturmaktadır^{61, 62}. Deneysel gruplarında rektal ateş ölçüm sonuçlarını değerlendirdiğimizde; LPS grubunda 30-240 dakikalar arasında sağlıklı gruba göre rektal sıcaklık farkı ortalamasının yükseldiği görülmektedir. Bu da istenilen ateş modelinin oluştuğunu göstermektedir. Verilen 10 µg/kg LPS ile istenilen rektal sıcaklık farkı ortalaması artışı 0-1,2 °C arasında elde edilmiş ve ateş modeli oluşturulmuştur¹³³.

Parasetamol özellikle son 50 yıldır piyasada bulunan ve yaygın bir şekilde kullanılan analjezik ve antipiretik bir ilaçtır. Tek başına veya antiinflamatuvar ilaçların etkisini arttırmak için kombine halde hazırlanan preparatları mevcuttur. Her yaş grubunda yan etki insidansı düşük olduğu için güvenle kullanılmaktadır. Parasetamolün etkisinin COX-3 üzerinden olduğu yada bu etkide COX-3 enziminin rolünün olduğunu belirten çalışmalar olmuştur⁷⁴. LPS+PARA grubunda artan rektal sıcaklık farkı ortalaması parasetamol tarafından önlenmiştir. 160 mg/kg parasetamol rektal sıcaklık farkı ortalamasını hızla düşürmüş ve LPS ile oluşması beklenen ateş pikini engellemiştir¹³⁴.

Vücut sıcaklığı ön hipotalamus preoptik bölgede bulunan ısı regülatör merkez tarafından düzenlenir ve 5-HTR₇leri hipotalamusta yaygın olarak yer almaktadır^{16,17}. AS-19, 5-HTR₇ agonistidir. Yapılan çalışmalarda AS-19'un 10 mg/kg dozunda normal vucut sıcaklığını düşürdüğü gösterilmiştir¹³⁵. Ancak 5-HTR₇ agonistlerinin artmış vucüt sıcaklığı üzerine olası etkisi henüz araştırılmamıştır. Çalışmamızda da 10 mg/kg dozda kullanılan LPS+AGO grubunda AS-19'un rektal vucut sıcaklık ortalamasını düşürdüğü görülmüştür. LPS ile beklenen ateş piki agonist tarafından önlenmiştir. Bu da agonistin rektal sıcaklık farkı ortalamasını 5-HTR₇ üzerinden düşürdüğünü göstermiştir. SB-269970 selektif ve potent bir 5-HTR₇ antagonistidir ve yapılan autografik çalışmalarda hipotalamustada etkili olduğu gösterilmiştir¹⁷. Antagonist olmasından dolayı tek başına herhangi bir etkisi olmasına karşılık LPS+ANTA grubunda rektal sıcaklık farkı ortalamasını LPS grubuna göre attırdığı ve ateşi şiddetlendirdiği görülmüştür. LPS+AGO+PARA grubunda ise ateş düşüşü en belirgin olarak belirlenmiştir. Bu düşüş hem LPS+PARA hem de LPS+AGO gruplarındaki düşüşten daha fazladır. Hem parasetamolün hem de agonistin LPS ile oluşturulan ateşte düşüş sağladığı anlaşılmıştır.

Çalışmamızda aynı zamanda parasetamolün antipiretik etki mekanizmasında santral 5-HTR₇ lerin muhtemel rolleri araştırıldı. Parasetamolün hipotermik özelliğinin 5-HTR₇ üzerinden kaynaklandığı ilgili bir bulguya rastlanmadı. LPS+ANTA+PARA grubu LPS+PARA grubu ile benzerlik göstermektedir. Eğer parasetamol 5-HTR₇ üzerinden etkili olsaydı LPS+ANTA+PARA grubunda rektal vucut sıcaklık farkı ortalaması düşüşü görülmeyecekti. Çünkü eğer parasetamolün antipiretik etkisi 5HTR₇ üzerinden olsaydı 5-HTR₇ antagonisti verdiğimiz LPS+ANTA+PARA grubunun hipertermik olması gerekirdi. Bu gruba baktığımızda ise hipotermik etkinin devam ettiği görüldü. Dolayısıyla parasetamolün antipiretik etkisinin 5HTR₇ üzerinden olmadığını kanısına varıldı. Çalışmamız sürecinde yapılan diğer çalışmalarda da kanaatimizi

destekleyen çalışmalar literatüre girmiştir. Serotonerjik sistemin parasetamolün hipotermik etkisine katkısı olmadığı ispatlanmıřtır¹³⁹. LPS+AGO+ANTA grubunda rektal vucut sıcaklık farkı ortalamasında LPS grubu ile benzer sonuçlar gözlemlenmiştir. Bu nedenle antagonistin agonistin etkisini antagonize ettiği anlaşılmıştır. LPS+ANTA+AGO+PARA grubunda ise LPS+PARA grubu ile benzer sonuçlar elde edilmiştir. Bu nedenle yine antagonistin agonistin etkisini antagonize ettiği sonucuna varılmıştır. Bu nedenle parasetamolün antipiretik etkisini farklı bir mekanizmayla oluştuğu gösterilmiştir.

Vücuda giren enfeksiyon etkenleri, toksinler yada enflamasyon mediatörleri (pirojenler) kana karıştığında monosit, makrofaj ve endotel hücrelerinden interlokn (IL) ler ve IL'lerden özellikle IL-6, tümör nekrotizan faktör-alfa (TNF- α), interferon-gama (IFN- γ) gibi pirojen sitokinler salgılanmaktadır. Bu sitokinler ise PG-E₂ salınımını arttırmaktadır. Artan PG-E₂ ise n hipotalamusu uyarır ve ısı regülasyon eşik değerini yukarıya çeker. Bunun sonucunda ise ısı yapımı artar ve ateş meydana gelir. Çalışmamızda LPS ile oluşturduğumuz deneysel ateş modelinde hipotamusta ateşe bağlı olarak artan IL-6 ve TNF- α RT-PCR ekspresyonları incelendi. 2. ve 4. saatte değerlendirilen IL-6 ve TNF- α RT-PCR ekspresyonları her iki saatte farklı ancak benzer anlamlı olarak bulundu. LPS grubunda 2.saatte sağlıklı gruba göre yükselen ateşe birlikte IL-6 ve TNF- α 'nın da yükseldiği grld¹⁴⁰. Bu bulgular daha önce yapılan çalışmaları destekler nitelikteydi¹⁴⁰⁻¹⁴⁴. LPS+PARA grubunda ise IL-6 ve TNF- α RT-PCR ekspresyonlarının az miktarda düştüğü grld¹⁴⁵. Bu düşüşün parasetamolün antipiretik etkisinin COX-2 üzerinden olması ve zayıf antiinflamatuvar etki göstermesinden dolayı olduğu dřnld¹⁴⁶. Yine LPS+AGO ve LPS+AGO+PARA gruplarında IL-6 ve TNF- α RT-PCR ekspresyonları az miktarda düşük olarak saptandı. Bu sonuçlar 5-HTR₇ agonistleri ile yapılan daha önceki çalışmalarda 5-HTR₇

agonistlerinin antiinflamatuvar özelliğini destekler nitelikteydi¹³². Bu çalışmalarda uygulanan 5-HTR₇ agonistlerinin serumda IL-6 ve TNF- α yı düşürdüğü gösterilmiştir. LPS+AGO+ANTA grubunda antagonist agonisti antagonize ettiği için LPS grubu ile benzer sonuçlar görüldü. LPS+ANTA grubunda IL-6 ve TNF- α RT-PCR ekspresyonları ile ilgili herhangi bir anlamlı sonuca rastlanmadı. Bu sonuçta yine literatürdeki mevcut çalışmaları destekler nitelikteydi. Uygulanan 5-HTR₇ antagonistinin serumdaki IL-6 ve TNF- α seviyesini etkilemediği daha önceki çalışmalarda da gösterilmiştir¹³². LPS+ANTA+AGO+PARA grubunda ise LPS+PARA grubu ile benzer olarak IL-6 ve TNF- α RT-PCR ekspresyonları LPS grubuna göre anlamlı miktarda düşük olarak bulundu. Bu nedenle yine antagonistin agonistin etkisini antagonize ettiği sonucuna varıldı.

5-HTR₇ leri hipotalamusta yoğun olarak bulunmaktadır¹⁴. Daha önce yapılan çalışmalarda normal vucüt sıcaklığında verilen birçok 5-HTR₇ agonistinin normal vucüt sıcaklığını düşürdüğü görülmüştür^{18, 19, 135}. Yapılan çalışmalarda santral sinir sistemine geçen farklı selektif serotonin 5-HTR₇ reseptor agonistlerinin fare ve sıçanlarda vucüt sıcaklığını düşürdüğü ve buna ek olarak selektif 5-HTR₇ reseptor antagonist uygulamasının bu etkiyi inhibe ettiği gösterilmiştir¹⁸⁻²¹. Ancak mevcut literatürde ateş oluşumunda 5-HTR₇ reseptorleri ve 5-HTR₇ reseptor agonistlerinin etkisi incelenmemiştir. Bu nedenle biz çalışmamızda deneysel olarak LPS ile indüklediğimiz ateş modelinde hipotalamusta 5-HTR₇ RT-PCR ekspresyonlarını inceledik. 2. ve 4. saatlerde farklı miktarlarda ancak benzer anlamlı sonuçlar elde ettik. Bizim çalışmamızda LPS grubunda artan rektal vucüt sıcaklık ortalama farkı ile birlikte 5-HTR₇ RT-PCR ekspresyonları SAĞLIKLI gruba göre anlamlı olarak artmış olarak görüldü. 5-HTR₇ nin ateşin durdurulmasında bir savunma mekanizması olduğu düşünüldü. LPS verdiğimizde 5-HTR₇ lerin eksprese olması LPS nin oluşturacağı hipertermide korunma amaçlı olduğu

kanısına varıldı. LPS+AGO grubunda ise agonistin oluşturduğu down regülasyon etkisi ile 5-HTR₇ RT-PCR ekspresyonu LPS grubuna göre anlamlı olarak azalmış olarak saptandı ve rektal vucüt sıcaklık ortalama farkı ise LPS grubuna göre anlamlı oranda düşük olarak görüldü. LPS+PARA grubunda ise LPS grubuna göre azalan vucüt sıcaklık ortalama farkı ile birlikte 5-HTR₇ RT-PCR ekspresyonunda LPS grubuna göre herhangi bir anlamlı farka rastlanmadı. Bu da 5-HTR₇ nin parasetamolün analjezik etkisinde rol olmasına karşın antipiretik etkisinde rol oynamadığını gösterdi¹³². Çalışmamız sırasında literatüre giren bazı çalışmalar da parasetamolün antipiretik etkisinin serotonerjik yolak üzerinden olmadığını destekledi¹³⁹. LPS+ANTA grubunda 5-HTR₇ antagonisti verildiğinde 5-HTR₇ RT-PCR ekspresyonunun LPS grubuna göre anlamlı olarak arttığı saptandı ve rektal vucüt sıcaklık ortalama farkı ise LPS grubuna göre anlamlı oranda artmış olarak görüldü. Bu sonuçlar doğrultusunda antagonistin LPS'ye bağlı oluşan ateşi şiddetlendirdiği görüldü. LPS+AGO+ANTA grubunda antagonist agonisti antagonize ettiği için 5-HTR₇ RT-PCR ekspresyonu LPS grubu ile benzer olarak görüldü. LPS+ANTA+AGO+PARA grubunda ise LPS+PARA grubu ile benzer olarak 5-HTR₇ RT-PCR ekspresyonu saptandı ve LPS grubuna göre anlamlı miktarda düşük olarak bulundu. Bu nedenle yine antagonistin agonistin etkisini antagonize ettiği sonucuna varıldı.

LPS ile oluşan ateşte NMDA reseptörlerinin arttığı bilinmektedir¹⁴⁷. 5-HTR₇ aktivasyonun NMDA reseptör sinyalini azalttığı literatürde mevcut bilgiler arasındadır. Akut 5-HTR₇ aktivasyonunun daha önce yapılan çalışmalarda hipokampal nöronlarda NMDA'ya dönük akımları azalttığı ve NMDA reseptör subunit fosforilasyonunu değiştirdiği bilinmektedir⁴⁰. Bir NMDA antagonisti olan mementinin hayvanlarda hipertermi oluşmasını engellediği yapılan çalışmalarda gösterilmiştir¹⁴⁸. Parasetamolün NMDA ile indüklenmiş hiperaljeziyi blokladığı daha önce yapılan çalışmalarda

gösterilmiştir³. Biz bu amaçla NMDA reseptörlerinin 5-HTR₇ leri ile ilişkisini ve bu reseptörlerin parasetamol ile ilişkisini araştırdık. 2.saat NMDA-2A ve NMDA-2B reseptör ekspresyonları anlamlı olarak değerlendirilirken 4. saat NMDA-2A hem NMDA-2B reseptör ekspresyonları normal değerlere yaklaştığı için anlamsız olarak değerlendirildi. 2.saat NMDA-2A hem NMDA-2B reseptör ekspresyonu sonuçları incelendiğinde hem NMDA-2A hem NMDA-2B reseptör ekspresyonunun LPS grubunda SAĞLIKLI gruba göre anlamlı olarak artmış olduğunu gördük ve bu bulgumuz daha önce yapılan çalışmaları destekler nitelikteydi¹⁴⁷. LPS+PARA grubunda ise NMDA-2A ve NMDA-2B reseptör RT-PCR ekspresyonunun parasetamol tarafından LPS grubuna göre anlamlı miktarda azaldığı görüldü ve bu bulgumuz da daha önce yapılan çalışmaları destekledi³. LPS+AGO grubunda NMDA-2A ve NMDA-2B reseptör RT-PCR ekspresyonunun LPS grubuna göre anlamlı miktarda azaldığı gözlemlendi ve bu bulgumuz daha önce yapılan çalışmaları destekledi⁴⁰. LPS+ANTA grubunda ise NMDA-2A ve NMDA-2B reseptör RT-PCR ekspresyonunun LPS grubuna göre anlamlı oranda arttırdığı gözlemlendi. Bu bulgular doğrultusunda 5-HTR₇ lerinin NMDA-2 reseptörleri üzerinden etki edebileceği sonucuna varıldı. LPS+AGO+ANTA grubunda ise antagonistin agonisti antagonize etmesinden dolayı NMDA-2A ve NMDA-2B reseptör RT-PCR ekspresyonlarında LPS grubuna göre anlamlı fark gözlemlenmedi. LPS+AGO+PARA grubunda NMDA-2A ve NMDA-2B reseptör RT-PCR ekspresyonu LPS grubuna göre anlamlı oranda düşük olarak görüldü. LPS+ANTA+PARA grubunda ise antagonistin 5-HTR₇ RT-PCR ekspresyonunu arttırması ile birlikte NMDA-2A ve NMDA-2B reseptör RT-PCR ekspresyonunun artışına ek olarak parasetamolün NMDA-2A ve NMDA-2B reseptör RT-PCR ekspresyonunu azaltması ile birlikte totalde NMDA-2A ve NMDA-2B reseptör RT-PCR ekspresyonu LPS grubuna göre anlamlı olarak azalmış görüldü. LPS+AGO+ANTA+PARA grubunda ise antagonistin agonisti

antagonize etmesinden dolayı LPS+PARA grubu ile benzer sonuçlar bulundu. NMDA-2A ve NMDA-2B reseptör RT-PCR ekspresyonunun parasetamol tarafından LPS grubuna göre anlamlı miktarda azaldığı görüldü. NMDA reseptörlerinin ateş oluşumunda önemli role sahip olduğu, parasetamolün antipiretik etkisinin 5-HTR₇ leri ile bağlantılı olarak NMDA reseptörleri üzerinden olabileceği düşünüldü.



6. SONUÇ VE ÖNERİLER

5-HTR₇ termoregülasyonda önemli görev almaktadır. 5-HTR₇ agonistleri antipiretik etki göstermektedir. 5-HTR₇ NMDA reseptörleri üzerinden etki gösteriyor olabileceği düşünülmüştür, bu konuda ileri araştırmaların yapılması gerekmektedir. Parasetamolün antipiretik etkisinin 5-HTR₇ üzerinden olmadığı anlaşılmıştır. Parasetamolün antipiretik etkisinin NMDA reseptörleri üzerinden olabileceği düşünülmüştür. Parasetamolün antipiretik etkisi mekanizması tam olarak aydınlatılamadığı için araştırılmaya devam edilmesi gerektiği sonucuna varılmıştır.



KAYNAKLAR

1. Graham GG, Scott KF. Mechanism of action of paracetamol. *Am J Ther*, 2005, 12: 46-55.
2. Bujalska M. Effect of nitric oxide synthase inhibition on antinociceptive action of different doses of acetaminophen. *Pol J Pharmacol*, 2004, 56: 605-610.
3. Bjorkman R, Hallman KM, Hedner J, Hedner T, Henning M. Acetaminophen blocks spinal hyperalgesia induced by NMDA and substance P. *Pain*, 1994, 57: 259-264.
4. Mallet C, Daulhac L, Bonnefont J, Ledent C, Etienne M, Chapuy E, Libert F, Eschalier A. Endocannabinoid and serotonergic systems are needed for acetaminophen-induced analgesia. *Pain*, 2008, 139: 190-200.
5. Roca-Vinardell A, Ortega-Alvaro A, Gibert-Rahola J, Mico JA. The role of 5-HT_{1A/B} autoreceptors in the antinociceptive effect of systemic administration of acetaminophen. *Anesthesiology*, 2003, 98: 741-747.
6. Pickering G, Esteve V, Lorient MA, Eschalier A, Dubray C. Acetaminophen reinforces descending inhibitory pain pathways. *Clin Pharmacol Ther*, 2008, 84: 47-51.
7. Raffa RB, Walker EA, Sterious SN. Opioid receptors and acetaminophen (paracetamol). *Eur J Pharmacol*, 2004, 503: 209-210.
8. Raffa RB, Codd EE. Lack of binding of acetaminophen to 5-HT receptor or uptake sites (or eleven other binding/uptake assays). *Life Sci*, 1996, 59: PL37-40.
9. Kayaalp O. *Akılcıl Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji*. 13. Baskı. Ankara, Pelikan Yayıncılık, 2012: 1302-1310.
10. Hoyer D, Hannon JP, Martin GR. Molecular, pharmacological and functional diversity of 5-HT receptors. *Pharmacol Biochem Behav*, 2002, 71: 533-554.
11. Berger M, Gray JA, Roth BL. The expanded biology of serotonin. *Annu Rev Med*, 2009, 60: 355-366.
12. Hoyer D, Clarke DE, Fozard JR, Hartig PR, Martin GR, Mylecharane EJ, Saxena PR, Humphrey PP. International Union of Pharmacology classification of receptors for 5-hydroxytryptamine (Serotonin). *Pharmacol Rev*, 1994, 46: 157-203.
13. Hannon J, Hoyer D. Molecular biology of 5-HT receptors. *Behav Brain Res*, 2008, 195: 198-213.
14. Bonaventure P, Nepomuceno D, Hein L, Sutcliffe JG, Lovenberg T, Hedlund PB. Radioligand binding analysis of knockout mice reveals 5-hydroxytryptamine(7) receptor distribution and uncovers 8-hydroxy-2-(di-n-propylamino)tetralin interaction with alpha(2) adrenergic receptors. *Neuroscience*, 2004, 124: 901-911.

15. Thomas DR, Hagan JJ. 5-HT7 receptors. *Curr Drug Targets CNS Neurol Disord*, 2004, 3: 81-90.
16. Hansen HD, Herth MM, Ettrup A, Andersen VL, Lehel S, Dyssegaard A, Kristensen JL, Knudsen GM. Radiosynthesis and in vivo evaluation of novel radioligands for PET imaging of cerebral 5-HT7 receptors. *J Nucl Med*, 2014, 55: 640-646.
17. Varnas K, Thomas DR, Tupala E, Tiihonen J, Hall H. Distribution of 5-HT7 receptors in the human brain: a preliminary autoradiographic study using [3H]SB-269970. *Neurosci Lett*, 2004, 367: 313-316.
18. Hedlund PB, Kelly L, Mazur C, Lovenberg T, Sutcliffe JG, Bonaventure P. 8-OH-DPAT acts on both 5-HT1A and 5-HT7 receptors to induce hypothermia in rodents. *Eur J Pharmacol*, 2004, 487: 125-132.
19. Naumenko VS, Kondaurova EM, Popova NK. On the role of brain 5-HT7 receptor in the mechanism of hypothermia: comparison with hypothermia mediated via 5-HT1A and 5-HT3 receptor. *Neuropharmacology*, 2011, 61: 1360-1365.
20. Faure C, Mnie-Filali O, Scarna H, Debonnel G, Haddjeri N. Effects of the 5-HT7 receptor antagonist SB-269970 on rat hormonal and temperature responses to the 5-HT1A/7 receptor agonist 8-OH-DPAT. *Neurosci Lett*, 2006, 404: 122-126.
21. Guscott MR, Egan E, Cook GP, Stanton JA, Beer MS, Rosahl TW, Hartmann S, Kulagowski J, McAllister G, Fone KC, Hutson PH. The hypothermic effect of 5-CT in mice is mediated through the 5-HT7 receptor. *Neuropharmacology*, 2003, 44: 1031-1037.
22. Turan IO. Termoregülasyon. İçinde: Y. K (Çeviri editörü). Y K (editör). *Temel Anestezi*, 1.edisyon Baskı. Ankara, Güneş Tıp Kitabevleri, 2012: 359- 372.
23. Simon HB. Hyperthermia. *N Engl J Med*, 1993, 329: 483-487.
24. Sessler DI. *Miller Anestezi*. Çeviri: YP. Y. Baskı. İzmir Güven Kitapevi, 2010: 1571-1597

25. Guyton AC, Hall, J.E. *Tıbbi Fizyoloji*. Çeviri: C G. Baskı. Nobel Tıp Kitabevleri, 2001.
26. Marino PL. *The ICU Book*. Çeviri: A D. Baskı. Palme Yayınları, 2009.
27. Saper CB, Breder CD. The neurologic basis of fever. *N Engl J Med*, 1994, 330: 1880-1886.
28. Buggy DJ, Crossley AW. Thermoregulation, mild perioperative hypothermia and postanaesthetic shivering. *Br J Anaesth*, 2000, 84: 615-628.
29. Miller RD. *Temperature monitoring*. 4 th edition Baskı. New York, 1994.
30. Turan İÖ. Termoregülasyon. İçinde: Y K (Çeviri editörü). *Temel Anestezi*, Ankara, Güneş Tıp Kitabevleri, 2012.

31. Powell KR. Fever. In: Behrman RE KR, Jenson HB . *Nelson Textbook of Pediatrics*. 16th edn Baskı. Philadelphia, W.B. Saunders Company, 2000.
32. Nizet V, Vinci RJ, Lovejoy FH, Jr. Fever in children. *Pediatr Rev*, 1994, 15: 127-135.
33. Henker R, Carlson KK. Fever: applying research to bedside practice. *AACN Adv Crit Care*, 2007, 18: 76-87.
34. Osborn D, First, Zenel. *Pediatric*. Baskı. 2007.
35. Kara B. Çocuklukta ateşle ilgili bilgilerin gözden geçirilmesi. *J hum rhythm.*, 2003, 12: 10-14.
36. Tezer H. Nedeni bilinmeyen ateş. Çocuk sağlığı ve hastalıkları. Hacettepe, 2007.
37. Dalkıran YA. Annelerin ateş ve ateşli havale ile ilgili bilgi düzeyleri. Aile Hekimliği. İstanbul: Bakırköy Dr.Sadi Konuk Eğitim ve Araştırma Hastanesi, 2007.
38. Tabak F. Ateş patogenezi, ateş tipleri, erişkinde ateş yönetimi, Ateşli hastaya yaklaşım sempozyum dizisi, 2006, Cerrahpaşa tıp fakültesi 27-36.
39. Zhou X, Li J, Yang W. Calcium/calmodulin-dependent protein kinase II regulates cyclooxygenase-2 expression and prostaglandin E2 production by activating cAMP-response element-binding protein in rat peritoneal macrophages. *Immunology*, 2014, 143: 287-299.
40. Vasefi MS, Yang K, Li J, Kruk JS, Heikkila JJ, Jackson MF, MacDonald JF, Beazely MA. Acute 5-HT7 receptor activation increases NMDA-evoked currents and differentially alters NMDA receptor subunit phosphorylation and trafficking in hippocampal neurons. *Mol Brain*, 2013, 6: 24.
41. C.M. B. Fever:How many circulating pyrogens signal brain? *News Physiol Sci*, 1997, 12: 1-9.
42. Blatteis CM, Sehic E, Li S. Pyrogen sensing and signaling: old views and new concepts. *Clin Infect Dis*, 2000, 31 Suppl 5: S168-177.
43. Schmitt BD. Fever in childhood. *Pediatrics*, 1984, 74: 924-936.
44. Edwards HE, Courtney MD, Wilson JE, Monaghan SJ, Walsh AM. Fever management audit: Australian nurses' antipyretic usage. *Pediatr Nurs*, 2003, 29: 31-37.
45. Powell KR. *Fever*. 17th. edition Baskı. 2004.
46. Karböcüoğlu M, Uzel, N., Üçsel, R., Çıtak, A. . Tedavi ve ampirik antibiyotikler, Acil Pediatri ve Çocuk Yoğun Bakım Toplantı Kitabı, 2001, İstanbul.
47. Robertson J. Management of the child with fever. *Collegian*, 2002, 9: 40-42.
48. Linder N, Sirota L, Snapir A, Eisen I, Davidovitch N, Kaplan G, Barzilai A. Parental knowledge of the treatment of fever in children. *Isr Med Assoc J*, 1999, 1: 158-160.
49. Yalçın I. NO, Ertuğrul T. Y. . 3. Baskı Baskı. İstanbul, Nobel, 2002.

50. Kai J. What worries parents when their preschool children are acutely ill, and why: a qualitative study. *BMJ*, 1996, 313: 983-986.
51. Nişli G. Ateş etyopatogenezi Kitabı, Çocukluk Yafllarında Ateş Sempozyumu, 1993, 1—6.
52. Coşkun Yİ. Annelerin çocuklarında ateş ile ilgili bilgi düzeyleri tutum ve davranışları. 2011.
53. Purssell E. Physical treatment of fever. *Arch Dis Child*, 2000, 82: 238-239.
54. Porier MP, Davis, P.H., Gonzales-del Rey, J.A. Pediatric emergency departman nurse perspectives on fever in children. *Pediatr Emerg Care*, 2000, 16: 9-12.
55. Neyzi O, Ertuğrul, T., Demirkol, M. *Öykü ve fizik muayene*. 3.edisyon Baskı. İstanbul, Nobel Tıp Kitabevi, 2002.
56. Falzon A, Grech V, Caruana B, Magro A, Attard-Montalto S. How reliable is axillary temperature measurement? *Acta Paediatr*, 2003, 92: 309-313.
57. Ng DK, Chan CH, Chow PY, Kwok KL. Infrared ear thermometry. *Br J Gen Pract*, 2004, 54: 869; author reply 869.
58. El-Radhi AS, Barry W. Thermometry in paediatric practice. *Arch Dis Child*, 2006, 91: 351-356.
59. Dal Nogare AR, Sharma, S. *Exogenous pyrogens*. Baskı. Philadelphia, Lippincott-Raven Publishers, 1997.
60. Rietschel ET, Brade L, Schade U, Seydel U, Zahringer U, Brandenburg K, Helander I, Holst O, Kondo S, Kuhn HM, et al. Bacterial lipopolysaccharides: relationship of structure and conformation to endotoxic activity, serological specificity and biological function. *Adv Exp Med Biol*, 1990, 256: 81-99.
61. Sirko S, Bishai I, Coceani F. Prostaglandin formation in the hypothalamus in vivo: effect of pyrogens. *Am J Physiol*, 1989, 256: R616-624.
62. Ueno R, Narumiya S, Ogorochi T, Nakayama T, Ishikawa Y, Hayaishi O. Role of prostaglandin D2 in the hypothermia of rats caused by bacterial lipopolysaccharide. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1982, 79: 6093-6097.
63. Morse HN. Ueber eine neue Darstellungsmethode der Acetylamidophenole. *Ber Deutcher Chem Ges*, 1878, 11: 232-233.
64. Prescott LF. Paracetamol: past, present, and future. *Am J Ther*, 2000, 7: 143-147.
65. Brodie BB, Axelrod J. The fate of acetanilide in man. *J Pharmacol Exp Ther*, 1948, 94: 29-38.
66. Bertolini A, Ferrari A, Ottani A, Guerzoni S, Tacchi R, Leone S. Paracetamol: new vistas of an old drug. *CNS Drug Rev*, 2006, 12: 250-275.
67. Ouellet M, Percival MD. Mechanism of acetaminophen inhibition of cyclooxygenase isoforms. *Arch Biochem Biophys*, 2001, 387: 273-280.

68. Kayaalp O. *Akılclı Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji*. 13 th edition Baskı. Ankara, Pelikan Yayıncılık, 2012.
69. Smith HS. Potential analgesic mechanisms of acetaminophen. *Pain Physician*, 2009, 12: 269-280.
70. Ottani A, Leone S, Sandrini M, Ferrari A, Bertolini A. The analgesic activity of paracetamol is prevented by the blockade of cannabinoid CB1 receptors. *Eur J Pharmacol*, 2006, 531: 280-281.
71. Bruton LL. *Goodman Gilman Tedavinin Farmakolojik Temeli*. Baskı. İstanbul, Nobel Tıp Kitebevlere, 2006.
72. Flower RJ, Vane JR. Inhibition of prostaglandin synthetase in brain explains the anti-pyretic activity of paracetamol (4-acetamidophenol). *Nature*, 1972, 240: 410-411.
73. İlkaya F, Yılmaz, M.Z., Karakuş O. Parasetamol ve siklooksijenaz enzim inhibisyonu. *J. Exp. Clin. Med*, 2013, 30.
74. Botting R, Ayoub SS. COX-3 and the mechanism of action of paracetamol/acetaminophen. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*, 2005, 72: 85-87.
75. Chandrasekharan NV, Dai H, Roos KL, Evanson NK, Tomsik J, Elton TS, Simmons DL. COX-3, a cyclooxygenase-1 variant inhibited by acetaminophen and other analgesic/antipyretic drugs: cloning, structure, and expression. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2002, 99: 13926-13931.
76. Courad JP, Besse D, Delchambre C, Hanoun N, Hamon M, Eschaliere A, Caussade F, Cloarec A. Acetaminophen distribution in the rat central nervous system. *Life Sci*, 2001, 69: 1455-1464.
77. Schwab JM, Schluesener HJ, Laufer S. COX-3: just another COX or the solitary elusive target of paracetamol? *Lancet*, 2003, 361: 981-982.
78. Lages B, Weiss HJ. Inhibition of human platelet function in vitro and ex vivo by acetaminophen. *Thromb Res*, 1989, 53: 603-613.
79. Lucas R, Warner TD, Vojnovic I, Mitchell JA. Cellular mechanisms of acetaminophen: role of cyclo-oxygenase. *FASEB J*, 2005, 19: 635-637.
80. Erspamer V AB. Identification of enteramine, the specific hormone of the enterochromaffin cell system, as 5-hydroxytryptamine. *Nature*, 1952, 169: 800-801.
81. Rapport MM, Green AA, Page IH. Crystalline Serotonin. *Science*, 1948, 108: 329-330.
82. Freyburger WA, Graham BE, Rapport MM, Seay PH, Govier WM, Swoap OF, Vander Brook MJ. The pharmacology of 5-hydroxytryptamine (serotonin). *J Pharmacol Exp Ther*, 1952, 105: 80-86.
83. Twarog BM, Page IH. Serotonin content of some mammalian tissues and urine and a method for its determination. *Am J Physiol*, 1953, 175: 157-161.

84. Twarog BM. Responses of a molluscan smooth muscle to acetylcholine and 5-hydroxytryptamine. *J Cell Physiol*, 1954, 44: 141-163.
85. Kema IP, de Vries EG, Muskiet FA. Clinical chemistry of serotonin and metabolites. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl*, 2000, 747: 33-48.
86. Gaddum JH, Picarelli ZP. Two kinds of tryptamine receptor. *Br J Pharmacol Chemother*, 1957, 12: 323-328.
87. Gamoh S, Hisa H, Yamamoto R. 5-hydroxytryptamine receptors as targets for drug therapies of vascular-related diseases. *Biol Pharm Bull*, 2013, 36: 1410-1415.
88. Engel G, Gothert M, Hoyer D, Schlicker E, Hillenbrand K. Identity of inhibitory presynaptic 5-hydroxytryptamine (5-HT) autoreceptors in the rat brain cortex with 5-HT_{1B} binding sites. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*, 1986, 332: 1-7.
89. Barnes NM, Sharp T. A review of central 5-HT receptors and their function. *Neuropharmacology*, 1999, 38: 1083-1152.
90. Nilsson T, Longmore J, Shaw D, Pantev E, Bard JA, Branchek T, Edvinsson L. Characterisation of 5-HT receptors in human coronary arteries by molecular and pharmacological techniques. *Eur J Pharmacol*, 1999, 372: 49-56.
91. Morecroft I, Heeley RP, Prentice HM, Kirk A, MacLean MR. 5-hydroxytryptamine receptors mediating contraction in human small muscular pulmonary arteries: importance of the 5-HT_{1B} receptor. *Br J Pharmacol*, 1999, 128: 730-734.
92. Nilsson T, Longmore J, Shaw D, Olesen IJ, Edvinsson L. Contractile 5-HT_{1B} receptors in human cerebral arteries: pharmacological characterization and localization with immunocytochemistry. *Br J Pharmacol*, 1999, 128: 1133-1140.
93. Banes AK, Watts SW. Enhanced contraction to 5-hydroxytryptamine is not due to "unmasking" of 5-hydroxytryptamine(1b) receptors in the mesenteric artery of the deoxycorticosterone acetate-salt rat. *Hypertension*, 2001, 38: 891-895.
94. Ullmer C, Schmuck K, Kalkman HO, Lubbert H. Expression of serotonin receptor mRNAs in blood vessels. *FEBS Lett*, 1995, 370: 215-221.
95. Fu LW, Longhurst JC. Activated platelets contribute to stimulation of cardiac afferents during ischaemia in cats: role of 5-HT(3) receptors. *J Physiol*, 2002, 544: 897-912.
96. Kaumann AJ, Sanders L, Brown AM, Murray KJ, Brown MJ. A 5-hydroxytryptamine receptor in human atrium. *Br J Pharmacol*, 1990, 100: 879-885.
97. Yadav VK, Arantes HP, Barros ER, Lazaretti-Castro M, Ducy P. Genetic analysis of Lrp5 function in osteoblast progenitors. *Calcif Tissue Int*, 2010, 86: 382-388.

98. Yadav VK, Ryu JH, Suda N, Tanaka KF, Gingrich JA, Schutz G, Glorieux FH, Chiang CY, Zajac JD, Insogna KL, Mann JJ, Hen R, Ducy P, Karsenty G. Lrp5 controls bone formation by inhibiting serotonin synthesis in the duodenum. *Cell*, 2008, 135: 825-837.
99. Yadav VK, Balaji S, Suresh PS, Liu XS, Lu X, Li Z, Guo XE, Mann JJ, Balapure AK, Gershon MD, Medhamurthy R, Vidal M, Karsenty G, Ducy P. Pharmacological inhibition of gut-derived serotonin synthesis is a potential bone anabolic treatment for osteoporosis. *Nat Med*, 2010, 16: 308-312.
100. Murata S, Ohkohchi N, Matsuo R, Ikeda O, Myronovych A, Hoshi R. Platelets promote liver regeneration in early period after hepatectomy in mice. *World J Surg*, 2007, 31: 808-816.
101. Papadimas GK, Tzirogiannis KN, Panoutsopoulos GI, Demonakou MD, Skaltsas SD, Hereti RI, Papadopoulou-Daifoti Z, Mykoniatis MG. Effect of serotonin receptor 2 blockage on liver regeneration after partial hepatectomy in the rat liver. *Liver Int*, 2006, 26: 352-361.
102. Lesurtel M, Graf R, Aleil B, Walther DJ, Tian Y, Jochum W, Gachet C, Bader M, Clavien PA. Platelet-derived serotonin mediates liver regeneration. *Science*, 2006, 312: 104-107.
103. Lowy PH, Keighley G, Cohen NS. Stimulation by serotonin of erythropoietin-dependent erythropoiesis in mice. *Br J Haematol*, 1970, 19: 711-718.
104. Noveck RJ, Fisher JW. Erythropoietic effects of 5-hydroxytryptamine. *Proc Soc Exp Biol Med*, 1971, 138: 103-107.
105. Paulmann N, Grohmann M, Voigt JP, Bert B, Vowinckel J, Bader M, Skelin M, Jevsek M, Fink H, Rupnik M, Walther DJ. Intracellular serotonin modulates insulin secretion from pancreatic beta-cells by protein serotonylation. *PLoS Biol*, 2009, 7: e1000229.
106. Freire-Garabal M, Nunez MJ, Balboa J, Lopez-Delgado P, Gallego R, Garcia-Caballero T, Fernandez-Roel MD, Brenlla J, Rey-Mendez M. Serotonin upregulates the activity of phagocytosis through 5-HT1A receptors. *Br J Pharmacol*, 2003, 139: 457-463.
107. Matthes H, Boschert U, Amlaiky N, Grailhe R, Plassat JL, Muscatelli F, Mattei MG, Hen R. Mouse 5-hydroxytryptamine5A and 5-hydroxytryptamine5B receptors define a new family of serotonin receptors: cloning, functional expression, and chromosomal localization. *Mol Pharmacol*, 1993, 43: 313-319.
108. Lovenberg TW, Erlander MG, Baron BM, Racke M, Slone AL, Siegel BW, Craft CM, Burns JE, Danielson PE, Sutcliffe JG. Molecular cloning and functional expression of 5-HT1E-like rat and human 5-hydroxytryptamine receptor genes. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1993, 90: 2184-2188.

109. Meyerhof W, Obermuller F, Fehr S, Richter D. A novel rat serotonin receptor: primary structure, pharmacology, and expression pattern in distinct brain regions. *DNA Cell Biol*, 1993, 12: 401-409.
110. Ruat M, Traiffort E, Leurs R, Tardivel-Lacombe J, Diaz J, Arrang JM, Schwartz JC. Molecular cloning, characterization, and localization of a high-affinity serotonin receptor (5-HT7) activating cAMP formation. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1993, 90: 8547-8551.
111. Shen Y, Monsma FJ, Jr., Metcalf MA, Jose PA, Hamblin MW, Sibley DR. Molecular cloning and expression of a 5-hydroxytryptamine₇ serotonin receptor subtype. *J Biol Chem*, 1993, 268: 18200-18204.
112. Tsou AP, Kosaka A, Bach C, Zuppan P, Yee C, Tom L, Alvarez R, Ramsey S, Bonhaus DW, Stefanich E, et al. Cloning and expression of a 5-hydroxytryptamine₇ receptor positively coupled to adenylyl cyclase. *J Neurochem*, 1994, 63: 456-464.
113. Bard JA, Zgombick J, Adham N, Vaysse P, Branchek TA, Weinshank RL. Cloning of a novel human serotonin receptor (5-HT7) positively linked to adenylate cyclase. *J Biol Chem*, 1993, 268: 23422-23426.
114. Gelernter J, Rao PA, Pauls DL, Hamblin MW, Sibley DR, Kidd KK. Assignment of the 5HT7 receptor gene (HTR7) to chromosome 10q and exclusion of genetic linkage with Tourette syndrome. *Genomics*, 1995, 26: 207-209.
115. Heidmann DE, Szot P, Kohen R, Hamblin MW. Function and distribution of three rat 5-hydroxytryptamine₇ (5-HT7) receptor isoforms produced by alternative splicing. *Neuropharmacology*, 1998, 37: 1621-1632.
116. Geurts FJ, De Schutter E, Timmermans JP. Localization of 5-HT_{2A}, 5-HT₃, 5-HT_{5A} and 5-HT₇ receptor-like immunoreactivity in the rat cerebellum. *J Chem Neuroanat*, 2002, 24: 65-74.
117. Tuladhar BR, Ge L, Naylor RJ. 5-HT₇ receptors mediate the inhibitory effect of 5-HT on peristalsis in the isolated guinea-pig ileum. *Br J Pharmacol*, 2003, 138: 1210-1214.
118. Irving HR, Tan YY, Tochon-Danguy N, Liu H, Chetty N, Desmond PV, Pouton CW, Coupar IM. Comparison of 5-HT₄ and 5-HT₇ receptor expression and function in the circular muscle of the human colon. *Life Sci*, 2007, 80: 1198-1205.
119. Leon-Ponte M, Ahern GP, O'Connell PJ. Serotonin provides an accessory signal to enhance T-cell activation by signaling through the 5-HT₇ receptor. *Blood*, 2007, 109: 3139-3146.
120. Gellynck E, Heyninck K, Andressen KW, Haegeman G, Levy FO, Vanhoenacker P, Van Craenenbroeck K. The serotonin 5-HT₇ receptors: two decades of research. *Exp Brain Res*, 2013, 230: 555-568.
121. Lovenberg TW, Baron BM, de Lecea L, Miller JD, Prosser RA, Rea MA, Foye PE, Racke M, Slone AL, Siegel BW, et al. A novel adenylyl

- cyclase-activating serotonin receptor (5-HT₇) implicated in the regulation of mammalian circadian rhythms. *Neuron*, 1993, 11: 449-458.
122. Hedlund PB, Danielson PE, Thomas EA, Slanina K, Carson MJ, Sutcliffe JG. No hypothermic response to serotonin in 5-HT₇ receptor knockout mice. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2003, 100: 1375-1380.
123. Meneses A, Manuel-Apolinar L, Rocha L, Castillo E, Castillo C. Expression of the 5-HT receptors in rat brain during memory consolidation. *Behav Brain Res*, 2004, 152: 425-436.
124. Roberts AJ, Hedlund PB. The 5-HT₇ receptor in learning and memory. *Hippocampus*, 2012, 22: 762-771.
125. Meneses A. Effects of the 5-HT₇ receptor antagonists SB-269970 and DR 4004 in autoshaping Pavlovian/instrumental learning task. *Behav Brain Res*, 2004, 155: 275-282.
126. Perez-Garcia GS, Meneses A. Effects of the potential 5-HT₇ receptor agonist AS 19 in an autoshaping learning task. *Behav Brain Res*, 2005, 163: 136-140.
127. Perez-Garcia G, Meneses A. Memory time-course: mRNA 5-HT_{1A} and 5-HT₇ receptors. *Behav Brain Res*, 2009, 202: 102-113.
128. Bonaventure P, Dugovic C, Kramer M, De Boer P, Singh J, Wilson S, Bertelsen K, Di J, Shelton J, Aluisio L, Dvorak L, Fraser I, Lord B, Nepomuceno D, Ahnaou A, Drinkenburg W, Chai W, Dvorak C, Sands S, Carruthers N, Lovenberg TW. Translational evaluation of JNJ-18038683, a 5-hydroxytryptamine type 7 receptor antagonist, on rapid eye movement sleep and in major depressive disorder. *J Pharmacol Exp Ther*, 2012, 342: 429-440.
129. Hedlund PB, Huitron-Resendiz S, Henriksen SJ, Sutcliffe JG. 5-HT₇ receptor inhibition and inactivation induce antidepressantlike behavior and sleep pattern. *Biol Psychiatry*, 2005, 58: 831-837.
130. Kim JJ, Bridle BW, Ghia JE, Wang H, Syed SN, Manocha MM, Rengasamy P, Shajib MS, Wan Y, Hedlund PB, Khan WI. Targeted inhibition of serotonin type 7 (5-HT₇) receptor function modulates immune responses and reduces the severity of intestinal inflammation. *J Immunol*, 2013, 190: 4795-4804.
131. Cadirci E, Halici Z, Bayir Y, Albayrak A, Karakus E, Polat B, Unal D, Atamanalp SS, Aksak S, Gundogdu C. Peripheral 5-HT₇ receptors as a new target for prevention of lung injury and mortality in septic rats. *Immunobiology*, 2013, 218: 1271-1283.
132. Albayrak A, Halici Z, Cadirci E, Polat B, Karakus E, Bayir Y, Unal D, Atasoy M, Dogrul A. Inflammation and peripheral 5-HT₇ receptors: the role of 5-HT₇ receptors in carrageenan induced inflammation in rats. *Eur J Pharmacol*, 2013, 715: 270-279.
133. Oka T, Oka K, Kobayashi T, Sugimoto Y, Ichikawa A, Ushikubi F, Narumiya S, Saper CB. Characteristics of thermoregulatory and febrile

responses in mice deficient in prostaglandin EP1 and EP3 receptors. *J Physiol*, 2003, 551: 945-954.

134. Li S, Dou W, Tang Y, Goorha S, Ballou LR, Blatteis CM. Acetaminophen: antipyretic or hypothermic in mice? In either case, PGHS-1b (COX-3) is irrelevant. *Prostaglandins Other Lipid Mediat*, 2008, 85: 89-99.

135. Brenchat A, Rocasalbas M, Zamanillo D, Hamon M, Vela JM, Romero L. Assessment of 5-HT(7) Receptor Agonists Selectivity Using Nociceptive and Thermoregulation Tests in Knockout versus Wild-Type Mice. *Adv Pharmacol Sci*, 2012, 2012: 312041.

136. Iwasa T, Matsuzaki T, Murakami M, Kinouchi R, Gereltsetseg G, Nakazawa H, Yamamoto S, Kuwahara A, Yasui T, Irahara M. Changes in responsiveness of appetite, leptin and hypothalamic IL-1beta and TNF-alpha to lipopolysaccharide in developing rats. *J Neuroimmunol*, 2011, 236: 10-16.

137. Iwasa T, Matsuzaki T, Tungalagsuvd A, Munkhzaya M, Kawami T, Niki H, Kato T, Kuwahara A, Uemura H, Yasui T, Irahara M. Hypothalamic Kiss1 and RFRP gene expressions are changed by a high dose of lipopolysaccharide in female rats. *Horm Behav*, 2014, 66: 309-316.

138. Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(T)(-Delta Delta C) method. *Methods*, 2001, 25: 402-408.

139. Fukushima A, Sekiguchi W, Mamada K, Tohma Y, Ono H. Serotonergic System Does Not Contribute to the Hypothermic Action of Acetaminophen. *Biol Pharm Bull*, 2017, 40: 227-233.

140. Tzirogiannis KN, Kourentzi KT, Zyga S, Papalimneou V, Tsironi M, Grypioti AD, Protopsaltis I, Panidis D, Panoutsopoulos GI. Effect of 5-HT7 receptor blockade on liver regeneration after 60-70% partial hepatectomy. *BMC Gastroenterol*, 2014, 14: 201.

141. Schneiders J, Fuchs F, Damm J, Herden C, Gerstberger R, Soares DM, Roth J, Rummel C. The transcription factor nuclear factor interleukin 6 mediates pro- and anti-inflammatory responses during LPS-induced systemic inflammation in mice. *Brain Behav Immun*, 2015, 48: 147-164.

142. Savignac HM, Couch Y, Stratford M, Bannerman DM, Tzortzis G, Anthony DC, Burnet PWJ. Prebiotic administration normalizes lipopolysaccharide (LPS)-induced anxiety and cortical 5-HT2A receptor and IL1-beta levels in male mice. *Brain Behav Immun*, 2016, 52: 120-131.

143. Ogimoto K, Harris MK, Jr., Wisse BE. MyD88 is a key mediator of anorexia, but not weight loss, induced by lipopolysaccharide and interleukin-1 beta. *Endocrinology*, 2006, 147: 4445-4453.

144. Tollner B, Roth J, Storr B, Martin D, Voigt K, Zeisberger E. The role of tumor necrosis factor (TNF) in the febrile and metabolic responses of rats

to intraperitoneal injection of a high dose of lipopolysaccharide. *Pflugers Arch*, 2000, 440: 925-932.

145. Veltmeijer MTW, Veeneman D, Bongers C, Netea MG, van der Meer JW, Eijsvogels TMH, Hopman MTE. The Impact of Central and Peripheral Cyclooxygenase Enzyme Inhibition on Exercise-Induced Elevations in Core Body Temperature. *Int J Sports Physiol Perform*, 2017, 12: 662-667.

146. Engstrom Ruud L, Wilhelms DB, Eskilsson A, Vasilache AM, Elander L, Engblom D, Blomqvist A. Acetaminophen reduces lipopolysaccharide-induced fever by inhibiting cyclooxygenase-2. *Neuropharmacology*, 2013, 71: 124-129.

147. Kao CH, Kao TY, Huang WT, Lin MT. Lipopolysaccharide- and glutamate-induced hypothalamic hydroxyl radical elevation and fever can be suppressed by N-methyl-D-aspartate-receptor antagonists. *J Pharmacol Sci*, 2007, 104: 130-136.

148. Nisijima K, Shioda K, Yoshino T, Takano K, Kato S. Memantine, an NMDA antagonist, prevents the development of hyperthermia in an animal model for serotonin syndrome. *Pharmacopsychiatry*, 2004, 37: 57-62.

EKLER

EK-1.ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler	
Adı Soyadı	: Duygu KÖSE
Doğum tarihi	: 05.07.1983
Doğum yeri	: Turgutlu
Medeni hali	: Evli, 2 çocuk
Uyruğu	: T.C.
Adres	: Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı, 25240 ERZURUM
Tel	: 0442 236 87 38 _ 05074704150
Faks	:
E-mail	: duygu.kose@atauni.edu.tr
Eğitim	
Lise	: Turgutlu Anadolu Lisesi (2001)
Lisans	: Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi (2001-2007)
Yabancı Dil Bilgisi	
İngilizce	: (YÖKDİL 90, Mart 2017)
Üye Olunan Mesleki Kuruluşlar	
	Türk Farmakoloji Derneği
İlgi Alanları ve Hobiler	
	Kitap okumak, yüzmek, gezmek

EK-2.ETİK KURULU ONAY FORMU



T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığı

Sayı : 75296309-050.01.04-E.1700158867
Konu : HADYEK Kararı.

02.06.2017

TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞINA

İlgi : 10.04.2017 tarihli ve 42190979-000-E.1700108075 sayılı belge.

İlgide kayıtlı yazınız; Atatürk Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulumuzun 24.05.2017 tarih ve 4 sayılı Oturumunda Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başvuru Formu ve ekli belgeleri, gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemler dikkate alınarak incelenmiş ve aşağıya çıkarılan 47 no'lu kararı ile sözkonusu tez çalışmasındaki hayvan türünün değiştirilerek, çalışmanın da Atatürk Üniversitesi Tıbbi Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezi (ATADEM) Laboratuvarlarında yürütülmesinin etik kurallarına uygun olduğuna mevcut oy birliğiyle karar verilmiştir.

Bilgilerinize arz ederim.

Toplantı Tarihi: 24.05.2017

Toplantı Sayısı : 4

KARAR NO 47: Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı, Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof.Dr.Zekai HALICI'nın yürütücülüğünde, Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığının Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı Laboratuvarında, 27.03.2015 tarih ve 3/70 sayılı kararımızla yürütülen "**Parasetamolün Antipiretik Etki Mekanizmasında Santral 5 HT7 Reseptörlerinin Muhtemel Rollerinin Sıçanlarda LPS İle İndüklenmiş Hipertermi Modelinde İncelenmesi**" başlıklı tez çalışmasında ki hayvan türünün değiştirilerek "**Parasetamolün Antipiretik Etki Mekanizmasında Santral 5 HT7 Reseptörlerinin Muhtemel Rollerinin Farelerde LPS İle İndüklenmiş Hipertermi Modelinde İncelenmesi**" başlıklı tez çalışması ile ilgili Tıp Fakültesi Dekanlığınının 10.04.2017 tarih ve 42190979-000-E.1700108075 sayılı yazısı ile ekleri görüşüldü.

Yapılan görüşmelerden sonra; adı geçen tez çalışmasındaki hayvan türünün değiştirilerek, çalışmanın da Atatürk Üniversitesi Tıbbi Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezi (ATADEM) Laboratuvarlarında yürütülmesinin, etik kurallarına uygun olduğunun, mevcut oy birliği ile kabulüne; karar verildi.

Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi 25240 Erzurum
Tel: +90 442 2317222
Elektronik Ağ: <http://www.atauni.edu.tr/#?birim=veteriner-fakultesi>

Kep Adresi: atauni@hs01.kep.tr

Bilgi: Mehmet KOCA
Faks: +90 442 2317244
E-Posta: vetfak@atauni.edu.tr

