



**KODEİNİN FARELERDE HÜMORAL BAĞIŞIK  
YANIT ÜZERİNDEKİ  
ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ**

**ANIL GÜNGÖR**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**BİYOLOJİ ANA BİLİM DALI  
Dr. Öğr. Üyesi Emel CANPOLAT**

**Ağustos - 2019**

**Her hakkı saklıdır**

T.C.

TOKAT GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ ANA BİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

KODEİNİN FARELERDE HÜMORAL BAĞIŞIK YANIT ÜZERİNDEKİ  
ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ

Anıl GÜNGÖR

TOKAT

Ağustos - 2019

Her hakkı saklıdır



**Bu tez çalışması;**

**Gaziosmanpaşa Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri tarafından 2015/133 nolu proje ile desteklenmiştir.**

Anıl GÜNGÖR tarafından hazırlanan “Kodeinin Farelerde Hümorale Bağışık Yanıt Üzerindeki Etkilerinin Belirlenmesi” adlı tez çalışmasının savunma sınavı 26 AĞUSTOS 2019 tarihinde yapılmış olup aşağıda verilen Jüri tarafından Oy Birliği / Oy Çokluğu ile Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **BİYOLOJİ ANA BİLİM DALI** 'nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

İmza

Danışman  
Dr. Öğr. Üyesi Emel CANPOLAT

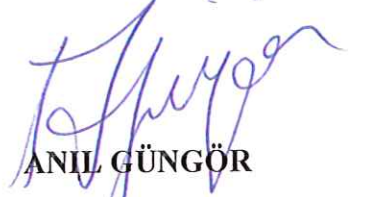
Üye  
Prof. Dr. İbrahim TÜRKEKUL  
Gaziosmanpaşa Üniversitesi

Üye  
Dr. Öğr. Üyesi Dursun KISA  
Bartın Üniversitesi

ONAY  
Prof. Dr. Çetin ÇEKİÇ  
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü  
26/08/2019

## TEZ BEYANI

Tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu tezin yazılmasında bilimsel ahlak kurallarına uyulduğunu, başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunulduğunu, tezin içerdiği yenilik ve sonuçların başka bir yerden alınmadığını, kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapılmadığını, tezin herhangi bir kısmının bu üniversite veya başka bir üniversitedeki başka bir tez çalışması olarak sunulmadığını beyan ederim.



**ANIL GÜNGÖR**  
26 Ağustos 2019

## ÖZET

### YÜKSEK LİSANS TEZİ

## KODEİNİN FARELERDE HÜMORAL BAĞIŞIK YANIT ÜZERİNDEKİ ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ

ANIL GÜNGÖR

TOKAT GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ ANA BİLİM DALI

(TEZ DANIŞMANI: DR. ÖĞR. ÜYESİ EMEL CANPOLAT)

Afyon Latince'de "*Papaver somniferum*" olarak adlandırılan haşhaş bitkisinden elde edilen ve uyuşturucu özelliği taşıyan bir maddedir. Morfin, kodein, eroin ve metadon gibi afyon haşhaşından elde edilen ve uyuşturucu özelliği olan maddelerin tümüne ise "opioid" adı verilir. Bulunuş miktarları itibarı ile morfin, kodein, tebain, papaverin, noskapin ve narsein afyondaki en önemli alkoloitlerdir. Kodeine, fosfat ve sülfat eklenmesi ile kodein tuzları olarak bilinen kodein fosfat ve kodein sülfat formları elde edilmektedir. Kodein fosfat ve kodein sülfat tıpta tedavi amaçlı olarak daha fazla tercih edilmektedir. Bu çalışmada, farklı şekillerde kullanılan kodein preparatlarının (kodein pür, kodein fosfat ve kodein sülfat) farelerde hümorale bağışık yanıt üzerindeki etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla, kodein ve kodein tuzları canlı ağırlığına göre 10 mg/kg, opioid antagonisti naltrekson 4 mg/kg ve ovalbumin (T-bağımlı antijen) her bir fare için 100 µg olacak şekilde %0.85'lik salin solüsyonu içerisinde hazırlanarak farelere intraperitoneal (karın içi) olarak 0. ve 10. günlerde enjekte edilmiştir. Enjeksiyon öncesi ve sonrasında elde edilen serum örneklerinde OVA spesifik immünoglobulin seviyeleri ELISA yöntemiyle belirlenmiştir. Sonuçlar, kodeinin antijen spesifik antikor seviyelerini belirgin şekilde baskıladığını, opioid antagonisti naltreksonun ise kodeinin immünosupresif etkilerini bloke ettiğini göstermiştir.

2019, 43 Sayfa

**ANAHTAR KELİMELEER:** ELISA, Hümorale immünite, İmmünoglobülin, Kodein, Kodein fosfat, Kodein sülfat, Opioid antagonist, Ovalbumin (OVA)

## **ABSTRACT**

### **MASTER THESIS**

#### **DETERMINATION OF THE EFFECTS OF CODEINE ON HUMORAL IMMUNE RESPONSE IN MICE**

**ANIL GUNGOR**

**TOKAT GAZIOSMANPASA UNIVERSITY  
GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES**

**DEPARTMENT OF BIOLOGY**

**SUPERVISOR: ASST. PROF. EMEL CANPOLAT**

Opium is a narcotic substance obtained from the poppy plant called *Papaver somniferum* in Latin. The substances such as morphine, codeine, heroin and methadone obtained from opium poppy are called opioids. Morphine, codeine, thebaine, papaverine, noscapine and narcine are the most important alkaloids in opium. By the addition of phosphate and sulfate to the pure form of codeine, codeine phosphate and codeine sulfate are obtained known as codeine salts. These forms of codeine are more preferred in medicine for therapeutic purposes. The aim of this study was to determine the effects of different preparations of codeine (pure codeine, codeine phosphate and codeine sulfate) on humoral immune response in mice. For this purpose, codeine, codeine salts (10 mg/kg) and opioid antagonist naltrexone (4 mg/kg) were prepared in 0.85% saline solution according to body weight and each mouse was injected intraperitoneally on day 0 and day 10 together with OVA (100 µg). OVA specific immunoglobulin levels were determined by ELISA in mice sera collected before and after immunizations. The results showed that codeine significantly suppresses antigen-specific antibody levels, whereas opioid antagonist naltrexone blocks the immunosuppressive effects of codeine.

2019, 43 Pages

**KEYWORDS:** ELISA, Humoral immunity, Immunoglobulin, Codeine, Codeine phosphate, Codeine sulfate, Ovalbumin (OVA)

## ÖNSÖZ

Daha önce morfinin bağışıklık sistemi üzerindeki etkilerine yönelik birçok çalışma yapılmasına rağmen, tıpta tedavi amaçlı kullanılan kodeinin hümorale bağışık yanıt ve özellikle de antikor cevabı üzerindeki etkileri konusunda kayda değer bir çalışma yapılmamıştır. Bu tez çalışmasında, kodeinin organizmalarda enfeksiyonlara ve extraselüler patojenlere karşı yanıtta önemli rolleri olan hümorale bağışık yanıt üzerindeki etkileri *in vivo* olarak belirlenip antikor cevabında ortaya çıkabilecek değişiklikler tespit edilmeye çalışılmıştır. Öncelikle tez çalışmam da, kendisine ne zaman danışsam bana kıymetli zamanını ayırıp sabırla ve büyük bir ilgiyle bana faydalı olabilmek için elinden gelenden fazlasını sunan her sorun yaşadığımda yanına çekinmeden gidebildiğim güler yüzünü ve samimiyetini benden esirgemeyen ve gelecekteki mesleki hayatımda da bana verdiği değerli bilgilerden faydalanacağını düşündüğüm, çalışma konusunun belirlenmesinde ve çalışmanın hazırlanma sürecinin her aşamasında bilgilerini, tecrübelerini ve değerli zamanlarını esirgemeyerek bana her fırsatta yardımcı olan değerli ve danışman hoca statüsünü hakkıyla yerine getiren Dr. Öğr. Üyesi Emel CANPOLAT'a teşekkürü bir borç bilirim. Çalışmam boyunca bütün laboratuvar imkanlarını kullanmama imkan tanıyan Biyoloji Bölüm Başkanlığı ve Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölüm Başkanlığına, Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Bilimsel Araştırma Komisyonu ve çalışanlarına, deney hayvanlarının bakımını üstlenen Gaziosmanpaşa Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma Birimi çalışanlarına sabırları ve yardımlarından dolayı teşekkür ederim. Teşekkürlerin az kalacağı diğer üniversite hocalarımdan da bana 4 yıllık üniversite hayatım boyunca kazandırdıkları her şey için ve beni gelecekte söz sahibi yapacak bilgilerle donattıkları için hepsine teker teker teşekkürlerimi sunuyorum. Ve son olarak çalışmam da desteklerini ve bana olan güvenlerini benden esirgemeyen kıymetli Arş. Gör. Elif KAYMAK ÜSTÜN'e, arkadaştan öte olan her türlü yardımına koşan değerli arkadaşım Mustafa AVŞAR'a ve beni bugünlere sevgi ve saygı kelimelerinin anlamlarını bilecek şekilde yetiştirerek getiren ve benden hiçbir zaman desteğini esirgemeyen bu hayattaki en büyük şansım olan isimlerini yazmakla bitiremeyeceğim aileme teşekkür ve minnetimi özellikle belirtmek istiyorum.

**ANIL GÜNGÖR**

**26 Ağustos 2019**



# İÇİNDEKİLER

Sayfa

<b>ÖZET</b> .....	<b>i</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>ii</b>
<b>ÖNSÖZ</b> .....	<b>iii</b>
<b>İÇİNDEKİLER</b> .....	<b>iv</b>
<b>SİMGELER ve KISALTMALAR LİSTESİ</b> .....	<b>vi</b>
<b>ŞEKİL LİSTESİ</b> .....	<b>viii</b>
<b>ÇİZELGE LİSTESİ</b> .....	<b>ix</b>
<b>1. GİRİŞ</b> .....	<b>1</b>
<b>2. GENEL BİLGİLER</b> .....	<b>3</b>
2.1. Kodein.....	3
2.1.1 Kodeinin etki mekanizması .....	4
2.1.2. Kodeinin tıpta kullanımı .....	5
2.2. Bağışıklık Sistemi .....	6
2.3. Doğal (Innate) Bağışıklık.....	7
2.3.1. Nötrofil.....	7
2.3.2. Monosit/Makrofaj .....	8
2.3.3. Doğal öldürücü hücre (NK, Natural Killer).....	9
2.4. Edinsel (Adaptif) Bağışıklık .....	9
2.4.1. Lenfositler .....	10
2.5. Antikorlar.....	11
2.5.1. IgM.....	12
2.5.2. IgG .....	12
2.5.3. IgA .....	13
2.5.4. IgD .....	13
2.5.5. IgE.....	14
2.6. Opioidlerin Bağışıklık Sistemi Üzerindeki Etkileri.....	14
2.6.1. Morfinin immünosupresyon mekanizması .....	15
2.6.2. Doğal bağışıklık sistemi üzerindeki etkileri .....	16
2.6.3. Edinsel (adaptif) bağışıklık sistemi üzerine etkisi .....	16
2.6.4. Opioidlerin immun sistemin spesifik hücreleri üzerindeki etkisi .....	17
<b>3. MATERYAL ve YÖNTEM</b> .....	<b>19</b>
3.1. Materyal .....	19
3.1.1. Deney hayvanları .....	19

3.1.2. Haşhaş alkaloidleri .....	19
3.1.3. Antikorlar .....	19
3.1.4. Kullanılan kimyasal maddeler .....	20
3.1.5. Kullanılan diğer malzemeler .....	21
3.1.6. Kullanılan cihazlar .....	21
3.2. Yöntem.....	22
3.2.1. Kullanılan çözeltiler ve hazırlanması .....	22
3.2.2. Kodein, kodein sülfat ve kodein fosfat tuzlarının hazırlanması .....	23
3.2.3. Enjeksiyonlar .....	23
3.2.4. Serum örneklerinin elde edilmesi .....	24
3.2.5. ELISA yöntemi .....	25
3.2.6. İstatistiksel yöntem .....	26
<b>4. BULGULAR.....</b>	<b>26</b>
4.1. Anti – OVA IgM Sonuçları .....	26
4.1.1. Kontrol – Salin – OVA – Naltrekson (NX) gruplarının IgM sonuçları.....	26
4.1.2. Kodein ve kodein + naltrekson gruplarının IgM sonuçları.....	27
4.1.3. Kodein fosfat ve kodein fosfat +naltrekson gruplarının IgM sonuçları.....	28
4.1.4. Kodein sülfat ve kodein sülfat + naltrekson gruplarının IgM sonuçları.....	29
4.2. Anti-OVA IgG Sonuçları.....	29
4.2.1. Kontrol -Salin-OVA- naltrekson gruplarının IgG Sonuçları .....	29
4.2.2. OVA, kodein ve kodein + naltrekson gruplarının IgG sonuçları.....	30
4.2.3. Kodein fosfat ve kodein fosfat + naltrekson gruplarının IgG sonuçları .....	31
4.2.4. Kodein sülfat ve kodein sülfat + naltrekson gruplarının IgG sonuçları.....	31
4.3. Anti-OVA Total Ig Sonuçları .....	32
4.3.1. Kontrol-salin-OVA-naltrekson gruplarının total Ig sonuçları .....	32
4.3.2. Kodein ve kodein + naltrekson gruplarının total Ig sonuçları .....	33
4.3.3. Kodein fosfat ve kodein fosfat + naltrekson gruplarının total Ig sonuçları..	33
4.3.4. Kodein Sülfat ve kodein sülfat + naltrekson gruplarının total Ig sonuçları..	34
<b>5. TARTIŞMA ve SONUÇ .....</b>	<b>35</b>
<b>6. KAYNAKLAR .....</b>	<b>39</b>
<b>8. ÖZGEÇMİŞ .....</b>	<b>43</b>

## SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ

### Simgeler

C°

µl

µg

ml

mg

g

%

Mol

µ

δ

κ

C<sub>18</sub>H<sub>21</sub>NO<sub>3</sub>

kDa

KCL

KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>

MgCl<sub>2</sub>

NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>

Na<sub>2</sub>CO<sub>4</sub>

NaN<sub>3</sub>

NaCl

### Açıklama

Celcius

Mikrolitre

Mikrogram

Mililitre

Miligram

Gram

Yüzde

Molarite

µ reseptör

delta reseptör

kappa reseptör

Kodein

Kilodalton

Potasyum klorür

Potasyum dihidrojen fosfat

Magnezyum klorür

Sodyum dihidrojen fosfat

Sodyum karbonat

Sodyum azit

Sodyum klorür

### Kısaltmalar

ADCC

ASH

BSA

DEA

ELISA

Fab

### Açıklama

Antikor bağımlı hücre aracılı sitotoksisite

Antijen Sunucu Hücre

Bovine Serum Albumini

Diethanolamine

Enzyme-Linked Immunosorbent Assay

Fragment Antijen Binding

Fc	Fragment Crystallizable
HADYEK	Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu
HPA	Hipotalamik Pituitier Adrenal
Ig	İmmünoglobülin
IgA	İmmünoglobülin A
IgD	İmmünoglobülin D
IgE	İmmünoglobülin E
IgG	İmmünoglobülin G
IgM	İmmünoglobülin M
IL	İnterleukin
LGL	Büyük Granüler Lenfosit
MHC	Major Histocompatibility Complex
MR	Mannoz Reseptör
NK	Natural Killer
OVA	Ovalbümin
PAMP	Pathogen Associated Molecular Pattern
PBS	Phosphate Buffered Saline
PCL	Picryl Chloride
PNPP	Para Nitrofenil Fosfat
PRR	Pattern Recognition Receptors
SNS	Sempatik Sinir Sistemi
Tc	Sitotoksik T hücreleri
TCR	T Hücre Reseptörü
Th	T Helper hücresi
TLR	Toll-Like Reseptör

## ŞEKİL LİSTESİ

<u>Sekil</u>	<u>Sayfa</u>
Şekil 2.1. Kodeinin kimyasal yapısı .....	3
Şekil 2.2. Kodein fosfat ve kodein sülfatın kimyasal yapısı.....	4
Şekil 2.3. Opioid reseptörleri sinyal transferinin moleküler mekanizması.....	5
Şekil 2.4. İmmüoglobülin molekül yapısı.....	11
Şekil 2.5. IgM molekülünün yapısı.....	12
Şekil 2.6. IgG molekülünün yapıs .....	13
Şekil 2.7. IgA molekülünün yapısı .....	13
Şekil 2.8. IgD molekülünün yapısı .....	14
Şekil 2.9. IgE molekülünün yapısı.....	14
Şekil 2.10. Morfinin immünosüpresif etkilerine genel bakış.....	15
Şekil 4.1. Kontrol, salin, OVA ve naltrekson (NX) gruplarında IgM seviyeleri.....	27
Şekil 4.4. Kodein fosfat'ın IgM antikor seviyesi üzerindeki etkisi .....	28
Şekil 4.5. Kodein sülfat'ın IgM antikor seviyesi üzerindeki etkisi .....	29
Şekil 4.6. Kontrol, salin, OVA ve naltrekson gruplarında IgG antikor seviyeleri.....	30
Şekil 4.7. Kodeinin IgG antikor seviyeleri üzerindeki etkisi.....	30
Şekil 4.8. Kodein fosfat uygulamasının IgG antikor miktarı üzerine etkisi .....	31
Şekil 4.9. Kodein sülfat uygulamasının IgG antikor seviyeleri üzerindeki etkisi .....	32
Şekil 4.10. Kontrol, salin, OVA ve naltrekson gruplarının total Ig antikor seviyeleri üzerindeki etkisi .....	32
Şekil 4.11. Kodein uygulamasının total Ig antikor seviyeleri üzerindeki etkisi .....	33
Şekil 4.12. Kodein fosfat uygulamasının total Ig antikor seviyeleri üzerindeki etkisi ...	34
Şekil 4.13. Kodein sülfat uygulamasının total Ig antikor seviyeleri üzerindeki etkisi ..	34

## ÇİZELGE LİSTESİ

### Çizelge

### Sayfa

Çizelge 2.1. Vücut savunmasına genel bakış..... 7

Çizelge 2.2. Edinsel bağışıklıkta görev alan hücre ve moleküllere genel bakış..... 9



## 1. GİRİŞ

Günümüzde analjezik (ağrı kesici), antitussif (öksürük dindirici) ve antidiyareik (ishal önleyici) özelliği olan ilaçların büyük çoğunluğunda opioid (opiyat) olarak adlandırılan maddeler kullanılmaktadır. Vücutta medulla spinalis (omurilik), beyin ve periferik sinir uçlarında kendileri için spesifik reseptörlere bağlanarak morfin benzeri etki gösteren, haşhaş ya da afyondan elde edilen, asıl kullanım amacı analjezi olan doğal ya da sentetik olarak elde edilebilen maddelere opioid adı verilmektedir (Özden, 2004). Afyon Latince'de *Papaver somniferium* olarak adlandırılan haşhaş bitkisi kapsüllerinin çizimi ile elde edilen sütün işlenmiş halidir ve uyuşturucu özelliği taşıyan bir maddedir. Morfin, kodein, tebain, papaverin, noskabin ve narsein bulunuş miktarları itibari ile afyonda bulunan en önemli alkaloidlerdir (Anonim, 2007). Özellikle morfin, şiddetli ağrıların dindirilmesinde kullanılan başlıca alkaloid olup tıp ve veterinerlik alanında ağrı yönetiminin belkemiğini oluşturmaktadır.

Opioidlerin genel olarak bağışıklık sistemini baskıladığı ve enfeksiyonlara karşı direnci değiştirerek hem doğal hem de edinsel (adaptif, sonradan kazanılan) bağışık yanıtları etkilediği belirtilmiştir (Vallejo ve ark., 2004; McCarthy ve ark., 2001). Yapılan birçok çalışmada özellikle morfinin immün sistem üzerindeki etkileri çalışılmıştır. Morfin şiddetli ağrıların giderilmesinde kullanılan en etkili analjezik olmasına rağmen, bağımlılık yapma özelliği çok fazladır. Morfinin hem doğal hem de edinsel bağışıklığın çeşitli işlevlerini azalttığı, akut ve kronik morfin uygulamasından sonra hem hayvan hem de insan çalışmalarında hücresel bağışıklığın önemli derecede azaldığı gözlemlenmiştir (Sacerdote ve ark., 1997).

Morfin üzerine yapılan bu çalışmaların sonuçları doğrultusunda, araştırmacılar morfinin hem bağımlılık yapma özelliğinin fazla olması hem de güçlü yan etkilerinden dolayı bağımlılık yapma derecesi çok daha az ve yan etkisi düşük olan farklı opioidler kullanarak ağrıları dindirme yoluna gitmişlerdir. Özellikle kodein morfinden daha zayıf bir narkotik olup hem ağrı kesici etkisi hem de bağımlılık yapma derecesi az olan bir alkaloiddir (Amstrong ve Cozza, 2003; Schroeder ve Fahey, 2001). Kodein analjezik (ağrı kesici), antitussif (öksürük dindirici) ve antidiyareik (ishal önleyici) özellikleri nedeniyle tıpta tedavi amaçlı olarak yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Kodeinin

bağımlılık yapma derecesi az olmasına rağmen morfin ve eroin kullananların bunları bulamadıklarında kodeine başvurabildikleri belirtilmiştir.

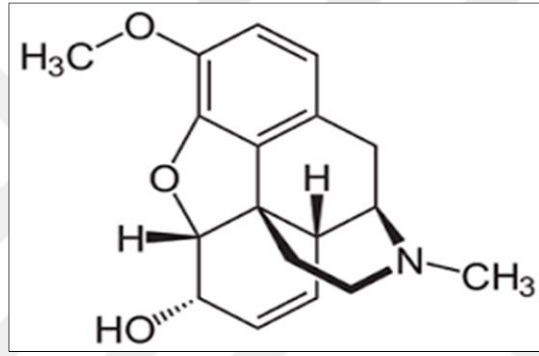
Morfinin bağışıklık sistemi üzerindeki etkilerine yönelik birçok çalışma yapılmasına rağmen, günlük hayatta sıklıkla karşılaşılabileceğimiz hastalıklar için yaygın kullanımı olan kodeinin hümorale bağışık yanıt ve özellikle de antikor cevabı üzerindeki etkileri konusunda kayda değer bir çalışma yapılmamıştır. Bu çalışmada özellikle tıpta tedavi amaçlı olarak morfinden daha fazla kullanımı olan ve bağımlılık yapma derecesi daha düşük olan kodeinin organizmalarda enfeksiyonlara ve ekstraselüler patojenlere karşı yanıtta önemli rolleri olan hümorale bağışık yanıt (antikor aracılı bağışık yanıt) üzerindeki etkileri *in vivo* olarak belirlenmeye çalışılmış ve antikor cevabında ortaya çıkabilecek değişiklikler tespit edilmiştir.



## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Kodein

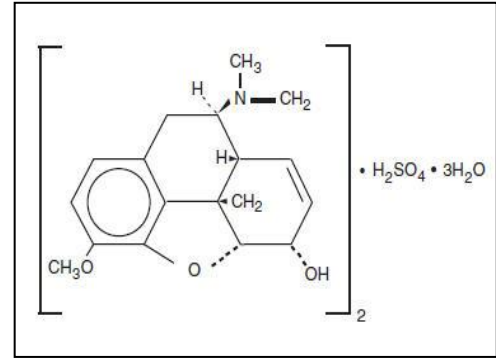
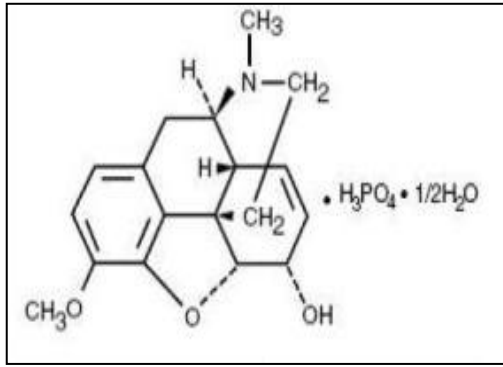
Kodein ya da diğer adıyla 3-metilmorfin haşhaş bitkisinden doğal olarak elde edilen ya da morfinin metilasyonu ile hazırlanabilen, farmakolojik ve tıbbi öneme sahip bir alkaloiddir. 1883 yılında Fransa’da Jean-Pierre Robiquet tarafından izole edilmiş olup, morfinden (%5-20) sonra %1-5’lik oran ile haşhaşta en fazla bulunan alkaloidlerden birisidir. Kimyasal formülü  $C_{18}H_{21}NO_3$  olup, molekül ağırlığı 299.364 g/mol’dür (Reynolds, 1996).



Şekil 2.1. Kodeinin kimyasal yapısı (Aşıcıoğlu ve ark., 2013)

Kodein beyaz-renksiz kristal yapıda, kokusuz ve acımsı bir tada sahiptir. Erime noktası 154-158°C arasındadır. 1:120 oranında suda, 1:15 oranında kaynar suda, 1:2 oranında alkolde, 1:0,5 oranında kloroformda, 1:50 oranında eterde çözünür. Ayrıca metil alkolde ve derişik asitte oldukça çözünür bir maddedir (Paolino, 1990).

Saf ya da pür kodeine fosfat ve sülfat eklenmesi ile kodein tuzları olarak adlandırılan kodein fosfat ve kodein sülfat elde edilmektedir. Kodein tıpta genellikle vücut tarafından daha kolay absorbe edilebilmeleri nedeniyle kodein sülfat ve kodein fosfat formunda kullanılmakta, tedavi amaçlı olarak oral tablet ya da parenteral enjeksiyon şeklinde hastaya uygulanmaktadır.



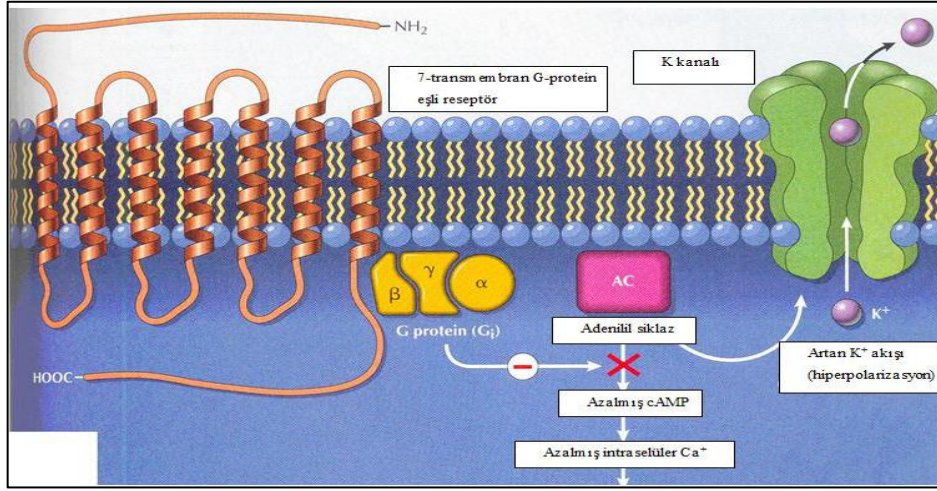
Şekil 2.2. Kodein fosfat ve kodein sülfatın kimyasal yapısı

### 2.1.1 Kodeinin etki mekanizması

Analjezik etkisiyle bilinen opioid molekülleri Sümerlerden beri kullanılmaktadır. Yapılan araştırmalarla memeli beyinde opioid moleküllerinin bağlanma noktaları yani reseptörleri keşfedilmiştir. Farmakolojik ve fizyolojik özelliği olan mu ( $\mu$ ), delta ( $\delta$ ) ve kapa ( $\kappa$ ) isimli üç ayrı temel opioid reseptör tipi bulunmaktadır. Opioid ligandları endorphin (mü ( $\mu$ ) reseptörüne bağlanır), dynorphin (kapa ( $\kappa$ ) reseptörüne bağlanır) ve enkephalin (delta ( $\delta$ ) reseptörüne bağlanır) gibi endojen peptitler olabileceği gibi, morfin ve kodein (mü ( $\mu$ ) reseptörüne bağlanırlar) gibi endojen olmayan moleküller de olabilmektedir (Jordan ve Devi, 1998; Yaksh, 2013).

370-400 aminoasitten, 7 transmembran geçişli proteinden oluşan opioid reseptörü adenil siklaz ile etkileşim içindedir. Proteinin N ucu ekstraselülerdir. Opioid reseptörü 3 alt birimden oluşan G proteini ile bağlanmıştır (Al-Hasani ve Bruchas, 2011; Yaksh, 2013).

GTPaz aktivitesi opioid agonistlerinin bağlanmasını düzenlemektedir. Opioid reseptöre agonist bağlanmasıyla intraselüler değişiklikler olur ve G proteininin  $G\alpha$  ve  $G\beta\gamma$  alt birimleri ayrılır.  $G\alpha$  proteini potasyum kanalını etkiler ve potasyum akışı artarak membran hiperpolarizasyonuna neden olur. Diğer G-protein bağlı reseptörlerde olduğu gibi cAMP üretimi azalır, adenil siklaz enzimi inhibe olur.  $G\beta\gamma$  alt biriminin ayrılmasıyla kalsiyum geçişi inhibe edilir ve buna bağlı olarak sinaptik veziküllerde ve sinaptozomlardaki kalsiyum içeriği azalır. Voltaj kapılı kalsiyum kanalının inhibe olması sonucunda nörotransmitter madde salgılanması baskılanır (Şekil 2.3) ve sonuç olarak sinyal aktarımı durur (Al-Hasani ve Bruchas, 2011; Yaksh, 2013).



Şekil 2.3. Opioid reseptörleri sinyal transferinin moleküler mekanizması (Raffa ve ark., 2004)

Opioid reseptörlerine agonist bağlanmasıyla birlikte vücutta analjezi, gözbebeğinin küçülmesi, vücut sıcaklığında ve tansiyonda düşüş gibi bir takım fizyolojik değişiklikler meydana gelmektedir. Opioid reseptörlerine agonist bağlandığında nörotransmitter madde salınımı engellenerek ağrı kontrolü sağlanmaktadır (Jordan ve Devi, 1998).

Opioid reseptörlerinin en yaygın bilinen antagonisti naloksondur (Jordan ve Devi, 1998, Yaksh, 2013). Antagonist madde opioidleri etkisiz hale getirir. Nalokson tam bir antagonisttir. Mü, kappa ve delta reseptörlerinin hepsini bloke ederek, morfin ve benzeri analjeziklerin yaptığı etkileri antagonize eder. Diğer opioid antagonisti ise naltrekson olup etki süresi naloksona göre çok daha uzundur (24-48 saat).

### 2.1.2. Kodeinin tıpta kullanımı

Kodein tıpta analjezik (ağrı kesici), antitussif (öksürük dindirici) ve antidiyareik (ishal önleyici) ve diğer bazı tıbbi amaçlar için kullanılabilir (Randall, 2004; Polson ve ark., 1983). Kodein düşük dozda (10-15 mg) antitussif etki oluşturduğu halde analjezik etki oluşturmaz. Analjezik etkinin oluşabilmesi için tek başına 20 mg ve üzeri dozlarda kullanılması gerekir. Ancak aspirin ve parasetamol gibi ilaçlarla kombinasyonu durumunda additif etkileşme nedeniyle bu kodein dozu yarıya kadar düşebilir. Ağızdan alınan 32 mg kodeinin terminal kanser ağrısına karşı 650 mg aspirin ile denk analjezik etki gösterdiği saptanmıştır (Martindale, 2007).

Kodein tıbbi kullanımında genellikle bir non-narkotik analjezikle kombine halde kullanılır. Kodein ilaç olarak parasetamol (Aferin kapsül, Geralgine K tablet), asetilsalisilik asit (Dolviran tablet) ve nonsteroid antiinflamatuarlarla (Nurofen Plus) birlikte kombine olarak bulunabilmektedir. Kodein analjezik maddelerle olan bu kombinasyonu yanında kafein (Dolviran tablet, Pacofen tablet) ve antihistaminikleri de (Aferin kapsül, Apex kapsül, Bronkar-A kapsül) içeren antigripal (grip tedavisinde kullanılan) ilaç kombinasyonlarında da yer almaktadır (Dökmeci, 2004).

## **2.2. Bağışıklık Sistemi**

Organizmanın kendine yabancı maddelerin tümünü etken olarak tanıması, kendi dokuları yararına ya da zararına bunları ortadan kaldırması yeteneğine bağışıklık denir.

Bağışıklık sistemi ise enfeksiyonlara karşı savunmayı sağlayan hücreler, dokular ve moleküllerin oluşturduğu bütüne verilen isimdir.

Bir organizmanın kendisini her türlü patojenden (virüs, bakteri, vb) koruması gerekmektedir. Bu tehditlere karşı koymak amacıyla, birbirleriyle bağlantılı üç savunma hattı gelişmiştir. Bunlardan ikisi doğal bağışıklık sistemi içinde olup özgün değildirler yani bir hastalık yapıcı etkeni diğerinden ayırt edemezler. Özgül olmayan savunmanın ilk hattı dışta olup vücudumuzu kaplayan deri, müköz zarları, epitel doku ve onların salgılarından oluşmaktadır. Özgül olmayan savunmanın ikinci hattı ise içte olup, dıştaki savunmayı geçebilmiş patojenlere ayırım gözetmeksizin saldıran ve kimyasal uyarılarla harekete geçen anti-mikrobiyal proteinler ve fagositik (nötrofil ve makrofaj) hücrelerdir. Savunmanın üçüncü hattı ise edinsel (sonradan kazanılan) bağışıklık sistemidir. Bu sistem ikinci savunma hattı ile aynı zamanda devreye girmekle birlikte belirli mikroorganizmalara, değişime uğramış vücut hücrelerine, toksinlere ve yabancı moleküllere karşı verdikleri özgül tepkileri açısından farklılık göstermektedir (Campbell, 2010).

Doğal bağışıklık		Edinsel bağışıklık
Savunmanın birinci hattı	Savunmanın ikinci hattı	Savunmanın üçüncü hattı
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Deri</li> <li>• Müköz zarlar</li> <li>• Deri ve müköz salgıların zarları</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Fagositik akyuvarlar</li> <li>• Antimikrobiyal proteinler</li> <li>• Yangı tepkisi</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Lenfositler</li> <li>• Antikorlar</li> </ul>

Çizelge 2. 1. Vücut savunmasına genel bakış

### 2.3. Doğal (Innate) Bağışıklık

Organizmaların türüne ve bireysel özelliklerine göre doğuştan sahip oldukları bağışıklığa doğal bağışıklık adı verilir. Bazı mikroorganizmaların normal şartlar altında yaşayamaması ve konak canlıya zarar vermemesi doğal bağışıklığın bir sonucu olarak ortaya çıkmaktadır. Vücudumuzda bulunan anatomik bariyerler doğal bağışıklık açısından önemli yapılardır. Vücudu saran deri, sindirim, solunum ve genitoüriner kanalları döşeyen müköz membranlar doğal immün sistemde ilk korumayı sağlayan önemli yapılardır. Bir takım antimikrobiyal maddeler, lizozim gibi enzimler ve vücudun normal florası patojen mikroorganizmaların kolonizasyonunu engellemektedir. Savunmanın birinci hattı olan fizyolojik bariyerler patojenlere karşı etkin bir savunma gerçekleştiremediği takdirde doğal immün sistemin hücreleri ve humoral faktörlerin savunması ile karşılaşılır. Doğal bağışıklıkta önemli görevleri olan hücreler nötrofiller ve monosit/makrofajlardır. Bu hücreler fagositoz yapma özelliğine sahip olup profesyonel fagositler olarak adlandırılırlar. Doğal immüitenin önemli diğer bir hücresi de doğal öldürücü (natural killer) hücrelerdir.

#### 2.3.1. Nötrofil

Lökositler (alyuvarlar) içerisinde kanda en yüksek oranda (%60-70) bulunan granüllü hücrelerdir. Profesyonel olarak fagositoz yeteneğine sahip olan bu hücreler fagosite ettikleri maddeleri granüllerinde bulunan lizozim, laktoferrin, hidrolaz, miyeloperoksidaz gibi enzimlerle parçalama veya öldürme işlemini gerçekleştirirler. Fagosite edilecek hedefin, kompleman ya da antikor ile kaplanmış olması (opsonizasyon) nötrofil içine alınmalarını kolaylaştırmaktadır. Yaşam süreleri birkaç saat ile birkaç gün arasında değişmektedir. Vücutta herhangi bir yaralanma ya da

enflamasyon olması durumunda o bölgeye ilk ulaşan hücreler olup sayıları 2-3 kat artış göstermektedir (Düzgün, 2008).

### **2.3.2. Monosit/Makrofaj**

Periferik kanda bulunan kısa ömürlü hücreler monosit olarak adlandırılmaktadır. Kandan dokulara göç eden monositler, farklılaşarak makrofajlara dönüşürler. Makrofajlar tüm vücut dokularına yayılmış olup, yerleştiği yerde özel isimleri ile anılmaktadır. Karaciğerde 'kupffer', deride "Langerhans" hücreleri, alveollerde "alveolar makrofajlar", beyinde "mikroglial hücreler", böbrekte "mezenşimal hücreler" ve kemikte ise "osteoklastlar" olarak bilinirler. Monosit ve makrofajlar profesyonel fagositik hücreler olup doğal immünitede önemli rol oynarlar. Özellikle antikor ile kaplı bakteri ve tümör hücrelerinin yıkımı ve parçalanması gibi efektör görevleri vardır (Düzgün, 2008).

Makrofajların patojenleri tanınması, patojen ilişkili moleküler motifler (PAMP: Pathogen Associated Molecular Pattern, PRR: Pattern Recognition Receptors), Toll-like reseptörler (TLR), mannoz reseptörleri (MR) gibi bazı yüzey molekülleri ile olur. Monosit-makrofajlar dokularda çeşitli hidrolitik enzimler, oksidatif metabolizma ürünleri ve kemoatraktan çeşitli sitokin (TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-6, IL-12, IL-15 gibi) ve kemokinler aracılığı ile proinflamatuvar ve anti-inflamatuvar görevlerde bulunurlar. Makrofajlar sitokin adı verilen bağışıklık sistemine yardımcı bir takım maddelerin üretimi ile hem doğal, hem de edinsel immünitede önemli görevler üstlenmişlerdir. Proinflamatuvar sitokinlerin (IL-1, IL-6, IL-8, TNF) üretimi ile enflamasyonda, IL-1 ve IL-6 gibi sitokinler aracılığıyla T ve B hücrelerin antijene bağlı aktivasyonunda temel rol alırlar. IL-12 ile hücrel immün yanıtta rol oynarlar. IFN- $\alpha$  salınımı ile antiviral etki sağlarlar.

Makrofajlar aynı zamanda antijen sunan hücreler olarak da görev yaparlar (ASH). Fagosite ettikleri yabancı antijenleri küçük parçalara ayrılmış peptidler halinde MHC (Major Histocompatibility Complex) sınıf II antijenleri ile kompleks oluşturarak yardımcı T hücrelerine (Th) sunarlar. Böylece edinsel immünitenin başlamasında anahtar rol oynarlar (Düzgün, 2008).

### 2.3.3. Doğal öldürücü hücre (NK, Natural Killer)

Doğal immün sistemde görev alan hücre grubudur. Periferik kandaki lenfositlerin %10-15 kadarını oluşturur. Lenfositlere benzerdir ancak onlara göre daha büyük ve granüllü olmaları nedeniyle büyük granüler lenfosit (LGL) olarak da adlandırılırlar. Granüllerde bulunan granzim ve perforin ile hedef hücreyi öldürürler. NK hücrelerinin çoğu CD16, CD56 ve CD57 yüzey molekülleri taşırlar. Yüzey molekülleri ile hedef hücreyi (virus ile enfekte hücre ve tümör hücresi gibi) tanır ve öldürücü aktivite (sitotoksiste) göstererek onları yok ederler. Ayrıca antikor ile kaplanmış hücreleri de öldürme özelliği vardır. NK hücre yüzeyindeki Fc reseptör ile antikor bağımlı hücre aracılı sitotoksitede (ADCC) önemli rol oynar (Düzgün, 2008).

### 2.4. Edinsel (Adaptif) Bağışıklık

Enfeksiyona neden olan ajanlarla karşılaşma sonucunda uyarılmaktadır. Lenfositlerin (T ve B lenfositleri) aracılık ettiği bağışıklık türü olup organizmada antikorların şekillenmesi ile meydana gelmektedir. Edinsel bağışıklık belirli bir antijene spesifik olup, aynı antijenle tekrarlayan karşılaşmalarda daha hızlı ve güçlü cevap oluşturma gibi üstünlüklere sahiptir. Edinsel bağışıklık başlıca humoral (B hücre aracılı) ve hücreli (T hücre aracılı) bağışıklık olmak üzere iki kısımda incelenmektedir. Özellikleri çizelge 2.2’de gösterilmiştir.

	Hümorale immünite	Hücreli İmmünite
Efektör hücre	B lenfosit	T lenfosit
Aracı moleküller	Antikor, sitokinler	Sitokinler, kemokinler

Çizelge 2.2. Edinsel bağışıklıkta görev alan hücre ve moleküllere genel bakış

Humoral bağışık yanıtta B lenfositlerin plazma hücrelerine dönüşerek ürettikleri, antijen spesifik moleküller olan antikorlar başlıca rol oynamaktadır. B hücre aracılığı ile antijenlere karşı antikor üretimi humoral bağışıklığın en temel görevidir. Hücre dışı yerleşen ekstraselüler mikroorganizmalar ve onların toksinlerine karşı savunmada etkin olup onların ortadan kaldırılmalarını sağlamaktadır. Ancak dolaşan antikorların hücre

içi yerleşim gösteren mikroorganizmalara (virüsler, mantarlar ve bazı bakteriler gibi) etkileri yoktur.

#### **2.4.1. Lenfositler**

Lenfositler edinsel bağışıklıkta görevli hücrelerdir. Morfolojik olarak tüm lenfositler birbirine benzerdir ancak fonksiyonları ve fenotipik karakteristikleri ile birbirlerinden ayrılan, T ve B lenfositleri olarak adlandırılan iki büyük lenfosit grubu bulunmaktadır.

Lenfositler (B ve T) kemik iliğinde hematopoetik kök hücrenin bir alt kolu olan lenfoid progenitör hücrelerden köken alırlar. Her ikisi de kemik iliğinde üretildikten sonra T lenfositleri timusta, B lenfositleri ise kemik iliğinde gelişimlerini ve olgunlaşmalarını tamamlar (Düzgün, 2008).

##### T lenfosit

Kemik iliğinden timusa gelen timositler (olgunlaşmamış T hücreleri) gelişme sürecinde antijen reseptörünü (T hücre reseptörü, TCR) kazanır. Pozitif ve negatif seleksiyon (self antijenleri yabancı olandan ayırt etme yeteneği) safhalarını geçirdikten sonra olgun T hücreler (CD4+T lenfosit ve CD8+T lenfosit) olarak periferik dolaşıma geçerler. Periferik kanda total kan lenfositlerinin yaklaşık %70 kadarını CD4+T yardımcı hücreler (Th, T helper), %25 kadarını ise CD8+T sitotoksik T hücreleri (Tc) oluşturmaktadır. Tüm T lenfositler yüzeylerinde CD3 molekülü taşırlar. T lenfositler özellikle hücresele bağışık yanıtta anahtar rol oynarlar (Düzgün, 2008).

##### B lenfosit

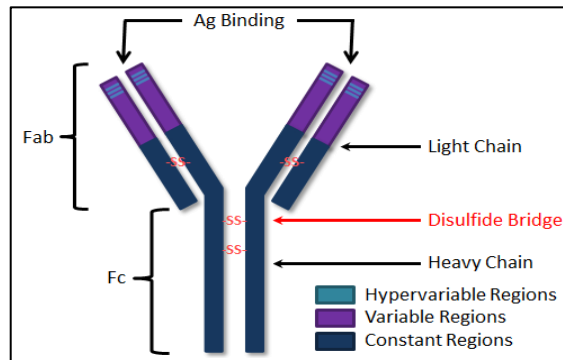
Hematopoetik kök hücrenin bir alt kolu olan lenfoid progenitör hücreden köken alan B lenfositlerin gelişmeleri antijenik bir uyarı olmadan kemik iliğinde başlamaktadır. Erken progenitör hücrelerden immatür (olgunlaşmamış) B lenfositleri gelişinceye kadar çeşitli farklılaşma (pre-B, immatür B, matür B) dönemleri vardır. İmmatür B lenfositleri kemik iliğinde iken fonksiyonel yüzey immünoglobulin M molekülünü kazanırlar ve olgun hücreler olarak periferik kana geçerler. Bu hücreler henüz antijenle karşılaşmamış 'naif' hücrelerdir. Periferik dolaşımdan periferik lenfoid dokulara (lenf bezi, dalak ve mukoza ilişkili lenfoid dokular=(MALT) göç ederler ve onlar için özel ayrılmış



bölgelere yerleşirler (lenfoid foliküllerde, dalakda beyaz pulpada). Periferik kanda matür B lenfositler %20-30 oranında bulunur (Düzgün, 2008).

## 2.5. Antikorlar

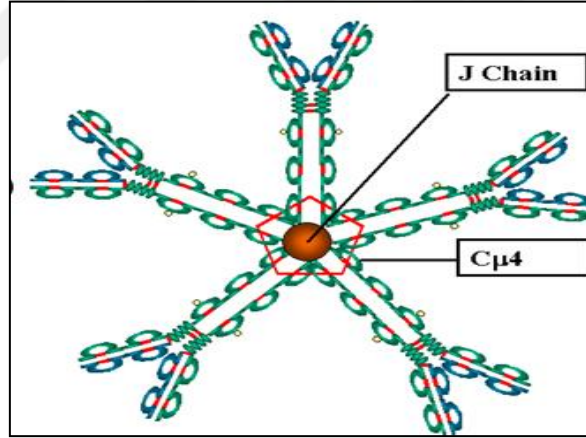
Antijenlere karşı plazma hücreleri tarafından üretilen ve kendileri için spesifik antijenler ile birleşme özelliğine sahip glikoprotein yapısındaki moleküllere antikor ya da diğer adıyla immunoglobulin adı verilir. Bir antikor molekülü 2 ağır ve 2 hafif zincirden oluşmaktadır. İki hafif zincir ayrı ayrı disülfid bağları ile ağır zincire bağlanır (Şekil 6). Ağır zincirler de disülfid bağları ile birbirine bağlanır. Antikor molekülünün yapısında bulunan beş tip ağır zincir ( $\gamma$ ,  $\alpha$ ,  $\mu$ ,  $\epsilon$ ,  $\delta$ ) sırasıyla IgG, IgA, IgM, IgE ve IgD moleküllerinin yapısını oluşturmaktadır.  $\gamma$  zincirinin dört alt tipi ( $\gamma_1$ ,  $\gamma_2$ ,  $\gamma_3$ ,  $\gamma_4$ ) ve  $\alpha$  zincirinin iki alt tipi ( $\alpha_1$   $\alpha_2$ ) bulunmaktadır. Bunlar sırasıyla IgG1, IgG2, IgG3, IgG4 ve IgA1, IgA2'yi ifade etmektedir. Antikorların yapısında lambda:  $\lambda$  ve kappa:  $\kappa$  olmak üzere iki tip hafif zincir bulunmaktadır. Bir immünoglobulin molekülünde iki adet ya lambda ya da kappa bulunur her ikisi aynı immünoglobulin molekülünde bulunmaz. İmmünoglobulinin iki adet aynı yapıya sahip antijen bağlayan bölgesi (Fab: Fragment antigen binding) ve fagositlere ve komplemana bağlanabilen kısmı (Fc: Fragment crystallizable) bulunmaktadır. Antijen bağlayan bölgede hem hafif, hem ağır zincir bulunur. Değişken (variable) ve sabit (constant) olan iki bölge içerir. Değişken bölgedeki amino asit diziliş farklılığı antijen cevabının spesifik olmasını sağlar. Fc parçasında ise sadece ağır zincir bulunur ve immünoglobulin tipini belirlemektedir (Düzgün, 2008).



Şekil 2.4. İmmünoglobulin molekül yapısı (Douglas F, 1997)

### 2.5.1. IgM

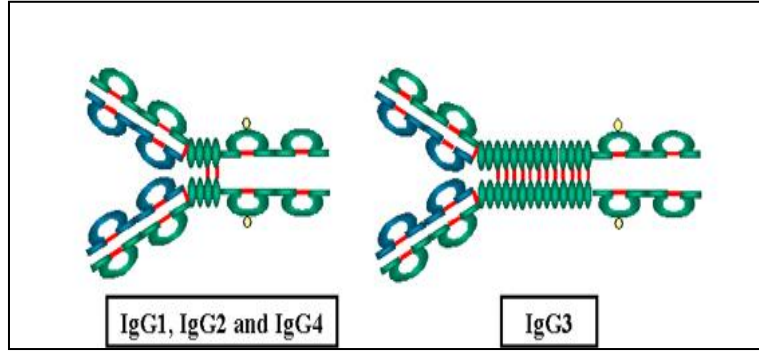
Beş immunoglobulin tipinden birisi olan IgM herhangi bir antijenle uyarılma sonucu ilk sentezlenen antikor tipidir. Serumun yaklaşık %5-10'unu oluşturur. Molekül ağırlığı 900,000 dalton olan IgM antikorunu vücudun savunulmasında görev alan en büyük Ig'dir. Beş adet monomerin birbirlerine disülfid bağlarıyla bağlanması sonucu oluşmuştur. Pentamer yapısında bir antikor olup aynı zamanda makroglobülin de denilmektedir (Şekil 2.5). Kısa ömürlü bir antikor tipidir ve büyük bir kısmı (%80) dolaşan kanda bulunur. Kompleman bağlama kapasitesi en yüksek olan antikordur. Fagositozu kolaylaştırıcı etkisi vardır. Organizma bir enfeksiyonla karşılaştığında ilk sentezlenen antikor tipi olup, hastalığın ilk ve erken dönemlerinde IgM serum düzeyinde bir artış görülmektedir. Ancak IgM antikorunu kısa ömürlü olduğundan hastalığın ilerleyen dönemlerinde serumdaki düzeyi azalarak yerini daha uzun süre koruyuculuk özelliği olan IgG antikor tipine bırakır (Kılıçturgay ve K. Güneş, 1994).



Şekil 2.5. IgM molekülünün yapısı (Mayer, 2016)

### 2.5.2. IgG

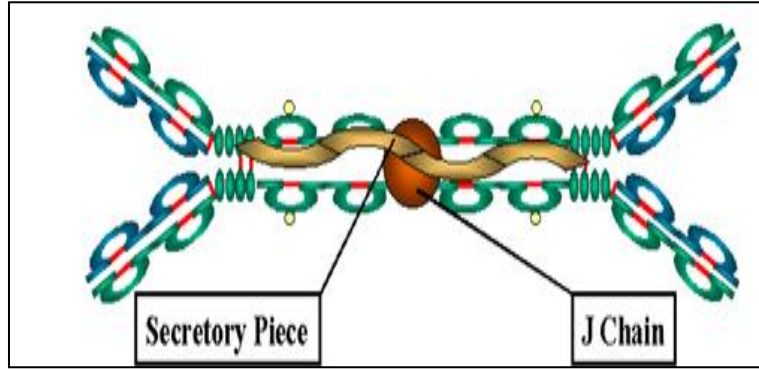
IgG antikor tipi serumdaki immünoglobulinlerin %75'ini oluşturmaktadır ve plasentadan geçebilen tek antikor tipidir. Y harfi şeklinde, monomer (tek birim) yapıda ve 150,000 kDa molekül ağırlığındadır. IgG moleküllerinde antijen bağlama ve menteşe bölgelerinde ağır zincirler arasındaki disülfid bağlarının farklı sayılarda olmasından dolayı dört alt grubu bulunmaktadır. IgG1'de 2, IgG2'de 4, IgG3'de 15 ve IgG4'te 2 disülfid bağı bulunur (Şekil 2.6). Tüm IgG'lerin %65'i IgG1'dir. IgG2 %23'ünü, IgG3 %8'ini, IgG4 ise %4'ünü oluşturur (Kılıçturgay ve K. Güneş, 1994).



Şekil 2.6. IgG molekülünün yapısı (Mayer, 2016)

### 2.5.3. IgA

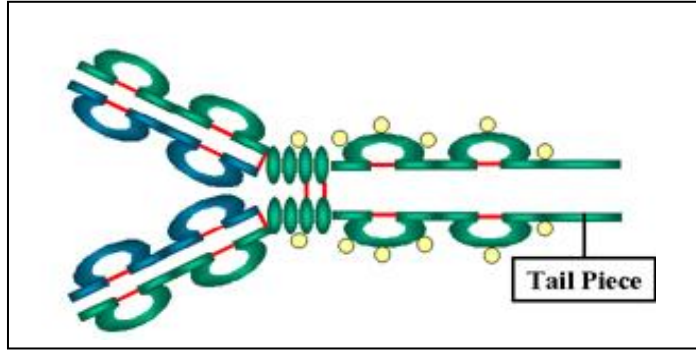
Serumda en fazla miktarda bulunan ikinci antikor tipi IgA antikorudur. IgA antikoruna ya monomer halde ya da iki veya daha fazla monomerin bağlanması sonucu dimer veya trimer halde bulunabilmektedirler (Şekil 2.7). IgA salgılarda bulunan temel Ig tipidir (gözyaşı, tükürük, kolostrum, mukus vb.). Salgıda bulunan IgA'lar proteolitik enzimlere dayanıklıdır. Salgısal IgA'lar mikroorganizmaların mukoza hücrelerine bağlanmalarına, burada yerleşmelerine ve enfeksiyon oluşturmalarına engel olmaktadır. Ayrıca besinlerle alınarak bağırsağa ulaşan, zararlı olabilecek makromoleküllerle birleşerek onların emilimini önler ve tahrip edilmelerini kolaylaştırır (Yeğen O., 1990).



Şekil 2.7. IgA molekülünün yapısı (Mayer, 2016)

### 2.5.4. IgD

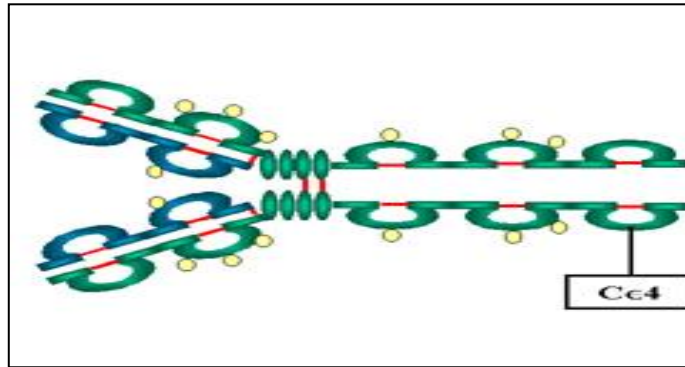
Diğer bir immünooglobulin tipi olan IgD tipi antikorlar monomer yapıda (Şekil 2.8) olup serumdaki Ig'lerin %0.2'sini oluşturmaktadır. IgM antikoruna ile birlikte B lenfositlerin yüzeylerinde bulunurlar ve bu hücrelerin farklılaşmasında önemli oldukları belirtilmiştir (Yeğen O., 1990).



Şekil 2.8. IgD molekülünün yapısı (Mayer, 2016)

### 2.5.5. IgE

Serumda en az bulunan ve Ig'lerin yaklaşık %0.004'ünü oluşturan antikor tipi IgE'dir. Molekül ağırlığı 190,000 kDa olup monomer yapıda bir Ig'dir.(Şekil 2.9) IgE, helmint denilen parazitlere karşı aktif bağışıklıkla, astım, saman nezlesi, ürtiker gibi çabuk tipteki aşırı duyarlılık reaksiyonlarında önemlidir. Bazofil ve mast hücrelerine bağlanabilme özelliğine sahiptir. Bunun sonucu olarak alerjenin bağlanmasıyla alerjik semptomlara yol açan birçok maddenin salınımına neden olmaktadır. Dolayısıyla alerjik reaksiyonlarda görev alan önemli bir antikor tipidir (Kılıçturgay ve K. Güneş, 1994).



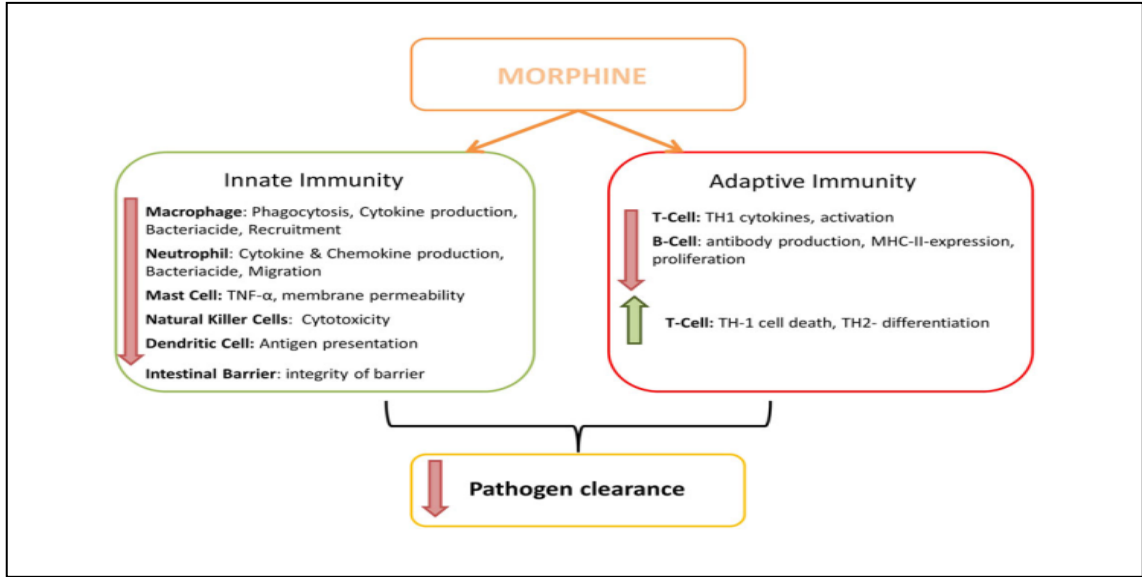
Şekil 2.9. IgE molekülünün yapısı (Mayer, 2016)

### 2.6. Opioidlerin Bağışıklık Sistemi Üzerindeki Etkileri

Akut ve kronik opioid uygulamalarının, antikor üretimi, doğal öldürücü (NK) hücre aktivitesi, sitokin ekspresyonu ve fagositik aktivite dahil olmak üzere, humoral ve hücresel bağışık yanıt üzerinde inhibe edici etkileri olduğu bilinmektedir (Vallejo ve ark., 2004; Sacerdote ve ark., 2003). Morfin, hem doğal hem de edinsel bağışıklığın çeşitli işlevlerini azaltır. Morfinin akut ve kronik uygulamasından sonra hem hayvan

hem de insan çalışlarında hüresel immüitenin önemli ölçüde azaldığı belirtilmiştir (Sacerdote ve ark.,2006).

Opioidler, immün sistemin her iki dalını da modüle ederek  $\mu$  reseptörüne (MOP reseptörü olarak da bilinir) bağlanır ve bu da konukçu organizmanın patojenleri temizleme yeteneğinin bozulmasına neden olur (Abbas ve ark., 2014).



Şekil 2.10. Morfinin immünosüpresif etkilerine genel bakış (Roy ve ark., 2011)

### 2.6.1. Morfinin immünosüpresyon mekanizması

Morfin gibi opioidler bağışıklık sistemini doğrudan modüle etmektedir. Bağışıklık hücreleri (T lenfositleri, B lenfositleri, NK lenfositleri, monositler, makrofajlar) üzerinde bulunan  $\mu$  (mü)-opioid reseptörlerine bağlanarak veya merkezi sinir sistemi içindeki  $\mu$ -opioid reseptörlerine bağlanarak dolaylı bir merkezi yolla bağlanır. Opioidler hipotalamik-hipofiz-adrenal (HPA) eksenin azalan yollarını ve sempatik sinir sistemini (SNS) aktive eder (Vallejo ve ark., 2004). HPA ekseninin aktivasyonu, periferdeki immünosüpresif glukokortikoidlerin üretimini sağlarken, birincil ve ikincil lenfoid organların innervasyonu yoluyla SNS'nin aktivasyonu noradrenalinin salınmasını sağlar (Budd K, 2004; Fecho K, Maslonek KA, Dykstra LA, 1996). Hem noradrenalin hem de glukokortikoidler, immün kabiliyeti negatif olarak modüle etmek için lökositler üzerinde etkilidir.

### 2.6.2. Doğal bağışıklık sistemi üzerindeki etkileri

Doğal bağışıklık makrofajlar, nötrofiller, mast hücreleri, NK hücreleri ve dendritik hücrelerden oluşmaktadır. Opioidlerin doğal bağışıklığın bu bileşenlerine zarar verdiği belirtilmiştir (Roy ve ark., 2011). Morfin, bir enfeksiyona yanıt veren makrofaj sayısını, önce makrofaj progenitör hücrelerinin ve lenfositlerin proliferatif kapasitesini düşürerek ve ikinci olarak, bu hücrelerin doku içine alınmasını önleyerek azaltmaktadır.

Ayrıca kronik morfin uygulaması makrofajların opsonize patojenleri yutmasını engelleyerek hem *in vitro* hem de *in vivo* olarak patojenlere karşı savunma mekanizmalarını düşürmektedir (Casellas et al., 1991; Bhaskaran et al., 2001). Morfinin makrofajlar üzerindeki etkisi doza bağlıdır. Düşük ve orta seviyedeki dozlar makrofajların fagositoz yeteneğini bozarken, yüksek dozların makrofajlarda toll-like receptor (TLR9) ve p38 MAPK yolları aracılığı ile apoptozise neden olduğu belirtilmiştir (Li et al., 2015).

Morfin, opioid reseptörleri ve TLR4 sinyalleşme yolları arasındaki negatif bir çapraz karışma yoluyla mast hücre aktivasyonunu inhibe eder (Meng ve ark., 2013). Buna ek olarak morfin, patojenlerin bağırsak bariyerini daha serbest bir şekilde geçmesine izin vererek bağırsak bariyeri geçirgenliğini artırır (Harari ve ark., 2006).

Dendritik hücreler, doğal ve adaptif bağışıklık sistemlerinin bağlanması önemli bir rol oynar. Yabancı antijenleri, T hücrelerine yakalar ve sunarlar (Bancherau ve Steinman, 1998). Morfin tedavisi antijenlerin, IL-23 üretimini engelleyerek dendritler tarafından T hücrelerine sunumunu inhibe eder (Wang ve ark., 2011).

### 2.6 3. Edinsel (adaptif) bağışıklık sistemi üzerine etkisi

Doğal bağışıklıktaki etkilerine benzer şekilde uzun süreli morfin tedavisinin edinsel bağışıklığı baskıladığı belirtilmiştir. T-hücre fonksiyonunu bozarak, sitokin ekspresyonunu değiştirerek, T-hücre aracılı apoptosisi baskılayarak, T-hücre farklılaşmasını modifiye ederek, B hücre fonksiyonlarını özellikle mü reseptör aracılığı ile azaltarak etkili olduğu belirtilmiştir. Profesyonel antijen sunucu hücrelerde (ASH'ler), morfin tedavisi özellikle B hücrelerinde majör histokompatibilite kompleksi sınıf II (MHC-II) ekspresyonunun down-regülasyonunu başlatır. Bu down-regülasyon

ASH'nın merkezi işlevinin zayıflamasına neden olur. Ayrıca, düşük MHC-II seviyeleri T-hücresi proliferasyonunu etkiler. Morfin T-hücrelerindeki  $\mu$  reseptörlerine bağlanır ve T-hücresini yardımcı T hücre tipi 2 (TH<sub>2</sub>) fenotipine doğru yönlendirir.  $\mu$  reseptörlerinin aktivasyonu adenil siklazın süper aktivasyonuna, intraselüler cAMP'de artışa, p38 MAPK'nın aktivasyonuna ve T- hücre spesifik transkripsiyon faktörü olan GATA3'ün uyarılmasına neden olur (Plein and Rittner, 2018).

#### **2.6.4. Opioidlerin immün sistemin spesifik hücreleri üzerindeki etkisi**

Opioidler hem doğuştan hem de edinsel bağışıklık sistemini etkileyerek, bağışıklık sisteminin çeşitli hücrelerine etki eder. Opioidler makrofaj ve nötrofillerin fagositik aktivitelerini etkiler. B ve T hücre antikör yanıtını baskılar, immün hücrelerinin kemotaksisini engeller ve enflamatuvar mediatör üretimini modüle eder.

##### Kemik iliği progenitör hücreleri üzerine etkisi

Farelerde *in vivo* morfin tedavisi makrofaj progenitör hücrelerinin makrofaj koloni uyarıcı faktöre (M-CSF) cevap olarak çoğalabilmesi yeteneğini bozmuştur. Sürekli morfin tedavisinden 36 saat sonra koloni oluşumunda %70'lik bir azalma görülmüştür. Ancak morfin tedavisi bitirildikten 5 gün sonra bu etkinin ortadan kalktığı tespit edilmiştir (Roy ve ark., 2006).

##### Makrofajlar üzerine etkisi

Akut ve kronik morfine maruz kalma fagositoz, tümör öldürücü aktivite, nitrik oksit (NO) üretimi, süper oksit oluşumu ve sitokin ekspresyonu gibi çeşitli makrofaj fonksiyonlarını etkiler (Singhal ve ark., 1998; Koff ve ark., 1985). Morfin uygulaması farelerin, sıçanların, insan gönüllülerinin makrofajlarında apoptozu baskılamıştır ve daha sonra bu etki morfinin antagonisti olan nalokson uygulandığında ortadan kalkmıştır (Singhal ve ark., 1998).

##### NK hücreleri üzerine etkisi

Akut ve kronik morfin uygulaması insan, maymun ve kemirgen NK hücrelerinin işlevini etkilemektedir (Yeager ve ark., 1995). Sıçanlarda ve sağlıklı insan gönüllülerinde morfin uygulamasının 2-3 saat içinde dalak NK hücrelerinin aktivitesini

azalttığı tespit edilmiştir. Daha sonra morfinin antagonisti olan naltrekson uygulandığında bu etkinin tamamen ortadan kalktığı görülmüştür (Bayer ve ark., 1990; Shavit ve ark., 1984).

### T hücreleri üzerine etkisi

Kronik morfin uygulamasının IL-2 ve IFN- $\gamma$  sentezini engellediği tespit edilmiştir. Bunun sonucu olarak T1 hücrelerinin Fas/FasL'ye bağımlı bir şekilde öldürülmesi yoluyla Th2 efektör hücrelerine doğru farklılaşmasına ve hücrel bağışıklığın azalmasına neden olduğu belirlenmiştir (Roy ve ark., 2004).





### **3. MATERYAL ve YÖNTEM**

#### **3.1. Materyal**

##### **3.1.1. Deney hayvanları**

Bu çalışmada 72 adet 20-30 gr ağırlığında 8-12 haftalık inbred BALB/c cinsi erkek fareler kullanıldı. Fareler Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Laboratuvarı'nda üretildi ve oda sıcaklığının 21°C olduğu, 12 saat aydınlık/karanlık döngüsünün sağlandığı odalarda dört fareden oluşan gruplar halinde barındırıldı, standart laboratuvar diyeti ve normal musluk suyu ile beslendi. Grup içindeki fareleri birbirinden ayırt etmek için fare numaralandırma sistemine göre farelerin kulakları delindi. Deney hayvanları üzerinde yapılacak bütün işlemler için Gaziosmanpaşa Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan (HADYEK) gerekli izinler alındı.

##### **3.1.2. Haşhaş alkaloidleri**

Çalışmada kullanılan haşhaş alkaloidlerinden kodein, kodein sülfat ve kodein fosfat Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu'nun özel izni ile Toprak Mahsulleri Ofisi'nden satın alındı.

##### **3.1.3. Antikorlar**

ELISA testlerinde sekonder antikor olarak alkalin fosfataz ile konjuge edilmiş goat anti-mouse Ig, goat anti-mouse IgG ve goat anti-mouse IgM antikorları (Southern Biotechnology) kullanıldı.

### 3.1.4. Kullanılan kimyasal maddeler

<b>Kimyasal Maddeler</b>	<b>Firma</b>
NaCl (sodyum klorür)	Merck
KCl (potasyum klorür)	Merck
NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> (sodyum dihidrojen fosfat)	Merck
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> (potasyum dihidrojen fosfat)	Merck
Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> (sodyum karbonat)	Merck
NaN <sub>3</sub> (sodyum azit)	Sigma
MgCl <sub>2</sub> (magnezyum klorür)	Merck
Diethanolamin (DEA)	Sigma
Tween 20	Sigma
BSA (bovine serum albümini)	Sigma
Teleostean jelatini	Sigma
PNPP (para nitrofenil fosfat) tabletleri	Sigma
Naltrekson hidrokloroid	Sigma
Triton X – 100	Sigma
OVA (ovalbümin)	Sigma

### 3.1.5. Kullanılan diğer malzemeler

Diseksiyon aletleri	Tıp Kim San
Vida kapaklı santrifüj tüpleri	Corning Costar
Eppendorf tüpleri (1.5 ml)	İsolab
Fare kulak delme aparatı	İnterlab
Heparinsiz hematokrit kapiller tüpler	İsolab
Steril enjektör (1 ml)	İsolab
Serolojik pipetler (5 ml, 10 ml)	Corning Costar
Cam şişeler 100 ml, 500 ml, 1000 ml	Isolab
Pipet ucu (2-10-20-200-1000 µl)	Axygen
96 kuyucuklu düz tabanlı mikropalakalar	Corning costar, Nunc
Otomatik pipetler	Brand, Rainin
8 kanallı otomatik pipet	Scilogex, Axygen, Eppendorf
Parafilm	Interlab
ELISA plate sealers	Pierce

### 3.1.6. Kullanılan cihazlar

Malzemenin adı	Firma
Hassas terazi	Denver Instrument
Vortex	Hettich
pH metre	Hanna HI 2211
İnkübatör	Nuaire AutoFlow NU-4750
Santrifüj	Hettich Micro 200R
Buzdolabı	Vestel

-86 C° derin dondurucu	New Brunswick Scientific
Ultra saf su cihazı	Milipore Direct-Q 3 UV
Buz makinası	Scotsman AF80
Otoklav	Hirayama HMC
Mikroplaka okuyucu	Thermo Scientific
Sıvı azot tankı	Locator 4 Thermolyne Dewars

## 3.2. Yöntem

### 3.2.1. Kullanılan çözeltiler ve hazırlanması

Steril salin (NaCl) solüsyonu: %0.85'lik NaCl solüsyonu hazırlamak için, 0.85 g NaCl 100 ml distile suyla cam şişede çözdürüldükten sonra ağzı kapatılarak otoklavda steril edildi.

PBS (Phosphate Buffered Salin): 8 g NaCl, 0.2 g KCl, 0.2 g, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 1.15 g Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 1 litre distile su içerisinde çözdürüldü. Daha sonra çözeltinin pH'sı 7.2' ye ayarlandı ve kullanılmak üzere +4°C'de saklandı.

Yıkama çözeltisi (PBS+Tween20+NaN<sub>3</sub>): ELISA testlerinde mikroplakaların yıkanmasında kullanılmak üzere 1 litre hazırlanan PBS çözeltisine % 0.02 NaN<sub>3</sub> ve % 0.005 Tween 20 eklenerek hazırlandı ve kullanılmak üzere + 4°C'de muhafaza edildi.

Kaplama çözeltisi (coating buffer): 1.57 g NaCO<sub>3</sub>, 2.93 g NaHCO<sub>3</sub>, 0.2 g NaN<sub>3</sub> 1 litre distile suda çözdürüldü ve pH'sı 9.6-9.8'e ayarlandı ve kullanılmak üzere +4°C'de muhafaza edildi.

Bloklama (blocking buffer) çözeltisi: 20 ml'lik PBS+Tween 20+NaN<sub>3</sub> (yıkama) çözeltisi içerisine 20 µl teleostean jelatin ilave edilerek hazırlandı.

Substrat çözeltisi: 0.02 g NaN<sub>3</sub>, 0.01 g MgCl<sub>2</sub>.6H<sub>2</sub>O bir miktar distile su içerisinde çözdürüldü ve 9.7 ml diethanolamine (DEA) eklendi. Volüm distile su ile 100 ml'ye tamamlandı. pH 9.8'e ayarlandı.

Dilüsyon çözeltisi (diluent buffer): 2 g BSA (bovine serum albümin) tartıldı ve 200 ml'lik PBS + Tween 20 içerisinde çözdürüldü.

### **3.2.2. Kodein, kodein sülfat ve kodein fosfat tuzlarının hazırlanması**

Farelere enjekte edilecek alkaloidlerin ve antagonist maddenin (naltrekson hidrokloroid) miktarını belirlemek için ilk olarak fareler tek tek tartıldı ve ağırlıkları belirlendi. Daha sonra enjekte edilecek dozlar farelerin canlı ağırlığına göre kodein, kodein sülfat ve kodein fosfat için 10 mg/kg, naltrekson hidrokloroid için de 4 mg/kg olacak şekilde steril %0.85'lik salin solüsyonu kullanılarak hazırlandı. OVA (ovalbümin - T bağımlı antijen) ise her bir fareye 100 µg verilecek şekilde steril salin solüsyonu içerisinde hazırlandı ve bütün maddeler aşağıda belirtilen şekilde 0. ve 10. günlerde enjekte edildi.

### **3.2.3. Enjeksiyonlar**

Grup 1: Kontrol grubu – Herhangi bir madde enjekte edilmedi.

Grup 2: Salin grubu - %0.85'lik steril fizyolojik salin (NaCl) solüsyonu enjekte edildi.

Grup 3: OVA grubu - 100µg OVA %0.85'lik salin solüsyonu içerisinde hazırlanarak enjeksiyon yapıldı.

Grup 4: OVA + Kodein grubu - 100 µg OVA + 10 mg/kg kodein canlı ağırlığına göre %0.85'lik salin solüsyonu içerisinde hazırlanarak enjeksiyon yapıldı.

Grup 5: OVA + Kodein fosfat grubu - 100 µg OVA + 10 mg/kg kodein fosfat canlı ağırlığına göre %0.85'lik salin solüsyonu içerisinde hazırlanarak enjeksiyon yapıldı.

Grup 6: OVA + Kodein sülfat grubu - 100 µg OVA + 10 mg/kg kodein sülfat canlı ağırlığına göre % 0.85'lik salin solüsyonu içerisinde hazırlanarak enjeksiyon yapıldı.

Grup 7: OVA + Kodein + naltrekson grubu - 100 µg OVA + 10 mg/kg kodein + 4 mg/kg naltrekson canlı ağırlığına göre %0.85'lik salin solüsyonu içerisinde hazırlanarak enjeksiyon yapıldı.

Grup 8: OVA + Kodein fosfat + naltrekson grubu - 100 µg OVA + 10 mg/kg kodein fosfat + 4 mg/kg naltrekson canlı ağırlığına göre %0.85'lik salin solüsyonu içerisinde hazırlanarak enjeksiyon yapıldı.

Grup 9: OVA + Kodein sülfat + naltrekson grubu - 100 µg OVA + 10 mg/kg kodein sülfat + 4 mg/kg naltrekson canlı ağırlığına göre % 0.85'lik salin solüsyonu içerisinde hazırlanarak enjeksiyon yapıldı.

Her bir gruba 0. ve 10. günlerde olmak üzere iki kez enjeksiyon yapıldı.

#### **3.2.4. Serum örneklerinin elde edilmesi**

Herhangi bir madde enjekte edilmeden önce farelerin göz çukuru (orbital sinüs) veninden mikrohemitakrit kapiler tüpler aracılığı ile kan alındı ve enjeksiyon öncesi serum örnekleri hazırlandı. Enjeksiyon sonrası serum örneklerini elde etmek için, ilk enjeksiyondan sonra 7. günde (primer antikor cevabı için gerekli olan süre), ikinci enjeksiyondan (10.gün) sonra da 14, 18, 21, 25 ve 28 günlerde (sekonder antikor cevabı için) farelerin orbital sinüs veninden 200 - 300 µl kan alındı. Alınan kanlar 1 saat oda sıcaklığında ardından da 1 saat 4°C'de bekletildikten sonra 4°C'de 3000 devirde 10 dakika santrifüj edildi. Santrifüjleme işleminden sonra elde edilen serum örnekleri 1.5 ml'lik ependorf tüplere aktarılarak - 80°C'de test edilmek üzere muhafaza edildi.

#### **3.2.5. ELISA Yöntemi**

Çalışmamızda antijen (OVA) ile tek başına, antijene ilave olarak haşhaş alkaloidleri (kodein, kodein fosfat, kodein sülfat) ya da opioid antagonisti ile enjekte edilen farelerden alınan serum örneklerindeki antikor miktarı (hem OVA-spesifik antikorlar hem de total Ig miktarları) ELISA yöntemiyle tespit edildi.

##### Anti - OVA Ig, IgG, IgM ELISA

Antijen (OVA) kaplama çözeltisi (1.57% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, 2.93% NaHCO<sub>3</sub>, 0.2% sodium azide, pH 9.7) içerisinde hazırlanarak 96 kuyucuklu, düz tabanlı mikrolakadaki kuyucuklara 100 µl olacak şekilde eklendi. 37°C'de 1 saat inkübe edildikten sonra mikrolaka 3 kez PBS (phosphate buffered saline) + (Tween 20 ve NaN<sub>3</sub>) çözeltisi ile yıkandı. Spesifik olmayan protein bağlanmasını bloke etmek için mikrolaka PBS+Tween 20 ve NaN<sub>3</sub>

içerisinde çözdürülen %1'lik teleostean jelatini ile 37°C'de 1 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonunda mikrolaka tekrar yıkanarak ve fare serumlarının dilüsyonları hazırlanarak uygun kuyucuklara eklendi ve 1 saat 37°C'de inkübe edildi. Yıkama işleminden sonra mikrolaka %1'lik BSA (sığır serum albümini) çözeltisi içerisinde hazırlanan sekonder antikor ile (alkalen fosfataz ile konjuge edilmiş goat anti-mouse Ig (H + L), IgG ve IgM) 1 saat 37°C'de inkübe edildi. Mikrolaka tekrar yıkandıktan sonra PNPP tabletleri (1 tablet/5 ml) substrat çözeltisi içerisinde çözdürüldü ve her bir kuyucuğa 100 µl eklendi. Mikrolaka ELISA okuyucusuna konularak 405 nm'de okutuldu ve kinetik renk değişimine bağlı absorbans değerleri belirlendi.

#### Total imünoglobülin seviyelerinin ELISA ile belirlenmesi

Bu ELISA testi için ilk olarak konjuge edilmemiş goat anti-mouse Ig (H+L) antikoruna kaplama çözeltisi içerisinde sulandırıldı ve mikrolakadaki her bir kuyucuğa 100 µl olacak şekilde eklendi. Mikrolaka 4°C'de bir gece inkübe edildi. Bir sonraki gün PBS (Tween 20 + NaN<sub>3</sub>) ile yıkama işleminden sonra spesifik olmayan bağlanmayı bloke etmek için kaplama çözeltisi içerisinde hazırlanan %2'lik BSA ile 37°C'de 1 saat inkübe edildi. Serum örnekleri %1'lik BSA çözeltisi içerisinde seyreltildi ve mikrolaka yıkandıktan sonra kuyucuklara 100 µl eklendi. 37°C'de 1 saat inkübe edildikten sonra mikrolaka yıkandı ve alkalin fosfataz ile konjuge edilmiş goat anti-mouse IgG ve IgM antikorları ile inkübe edildi. Mikrolaka tekrar yıkandıktan sonra PNPP tabletleri substrat çözeltisi içerisinde çözdürüldü ve her bir kuyucuğa 100 µl eklendi. Mikrolaka 405 nm'de mikrolaka okuyucusunda okutularak kinetik renk değişimine bağlı olarak absorbans değerleri belirlendi.

#### **3.2.6. İstatistiksel Yöntem**

İstatistikler için IBM SPSS Statistics 20 programı kullanılmıştır. Çalışmada gruplar arasındaki farklılık varyans analizi (one-way ANOVA) ile farklılığın hangi gruptan kaynaklandığı ise Duncan testi ile belirlenmiştir.

## 4. BULGULAR

Bu çalışmada kodein ve kodein tuzlarının hümorale bağışık yanıt üzerindeki etkilerini belirlemek amacıyla ELISA yöntemi kullanılmış ve antijen-spesifik antikor seviyeleri tespit edilmiştir. B lenfositler humoral bağışık yanıtta rol oynayan önemli hücrelerdir. B lenfositleri tarafından üretilen antijene spesifik antikorlar ya da diğer adıyla immünoglobulinler hümorale bağışık yanıtın temelini oluşturmaktadır. Antijenle temas sonrasında aktive olan B hücrelerinin bir bölümü plazma hücrelerine, diğer bir kısmı ise uzun süre koruyuculuk sağlayan, ikinci kez aynı antijenle karşılaştıklarında daha şiddetli bir yanıtın ortaya çıkmasını sağlayan bellek hücrelerine dönüşmektedir. Plazma hücreleri antikor üreten hücreler olup farklı tipte immünoglobülinleri salgılar. B hücrelerinin ürettiği immünoglobülinler IgM, IgG, IgA, IgD ve IgE olmak üzere 5 tiptir.

Bu çalışmamızda OVA antijeni ile enjekte edilen farelerde kodein ve kodein tuzlarının IgM, IgG ve Ig seviyeleri üzerindeki etkileri belirlenmeye çalışılmıştır. Antikor seviyelerindeki değişiklikleri belirlemek için farklı tipte antikorlar (alkalen fosfataz ile konjuge edilmiş goat anti-mouse Ig, (H + L), goat anti-mouse IgG, ve goat anti-mouse IgM antikorları) kullanılmıştır.

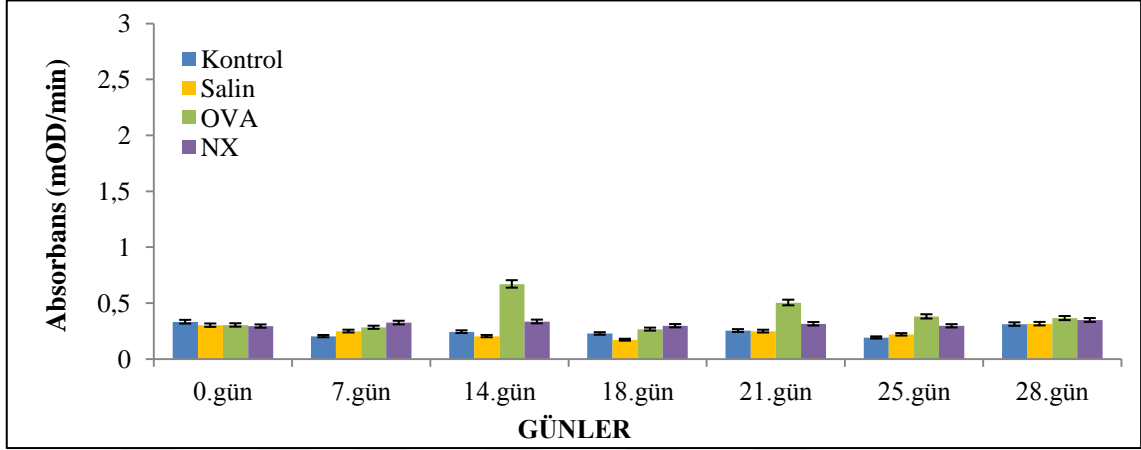
### 4.1. Anti – OVA IgM Sonuçları

#### 4.1.1. Kontrol - Salin - OVA - Naltrekson (NX) gruplarının IgM sonuçları

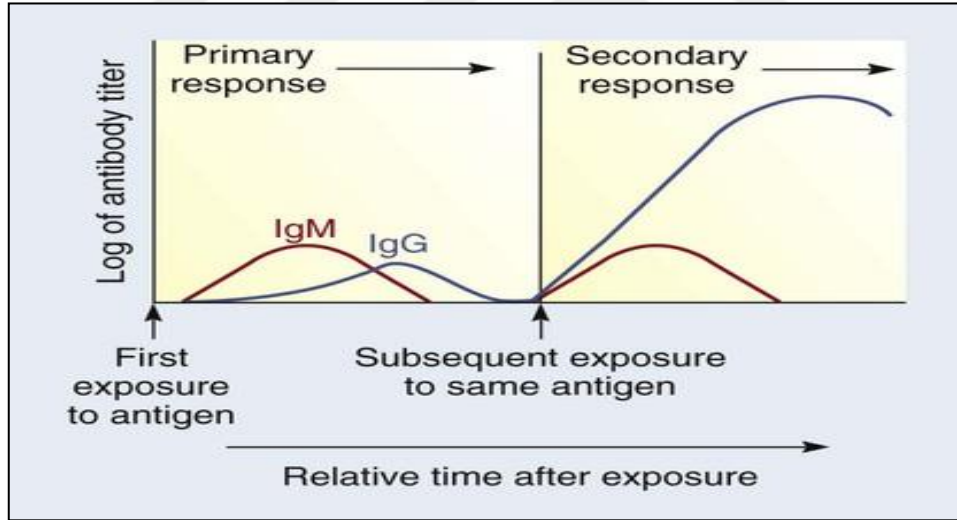
OVA ile enjekte edilen farelerde anti-OVA spesifik IgM seviyeleri kontrol ve salin grubu farelerle karşılaştırılmıştır (Şekil 4.1). Herhangi bir maddenin verilmediği kontrol ve sadece % 0.85'lik salin ile enjekte edilmiş farelerden farklı olarak OVA ile enjekte edilmiş farelerde IgM seviyelerinin 14. gün sonrasında yavaş bir şekilde düşmeye başladığı görülmüştür. OVA dışındaki diğer gruplarda (kontrol, salin ve NX ile enjekte edilen fareler) IgM seviyelerinin birbirine yakın seviyelerde olduğu görülmektedir. Organizma bir antijenle ilk karşılaştığında ortaya çıkan bağışıklık primer bağışıklık olarak adlandırılmaktadır ve bu aşamada belirgin olarak üretilen antikor tipi ise IgM'dir. Aynı antijen ile ikinci kez karşılaşmadan sonraki bağışıklık sekonder bağışıklık olarak adlandırılmakta, bu aşamada IgM tipi antikorlar yerini IgG'ye bırakmakta ve IgM antikor seviyelerinde düşüşler gözlenmektedir (Şekil 4.2). Özellikle 14. günden sonra



IgM seviyelerinde ortaya çıkan azalma, farelerin OVA ile 10. günde ikinci kez enjekte edilmesinden sonra IgM antikörlerinin yerini IgG tipi antikörlerin almasından kaynaklanmaktadır.



Şekil 4.1. Kontrol, salin, OVA ve naltrekson (NX) gruplarında IgM seviyeleri

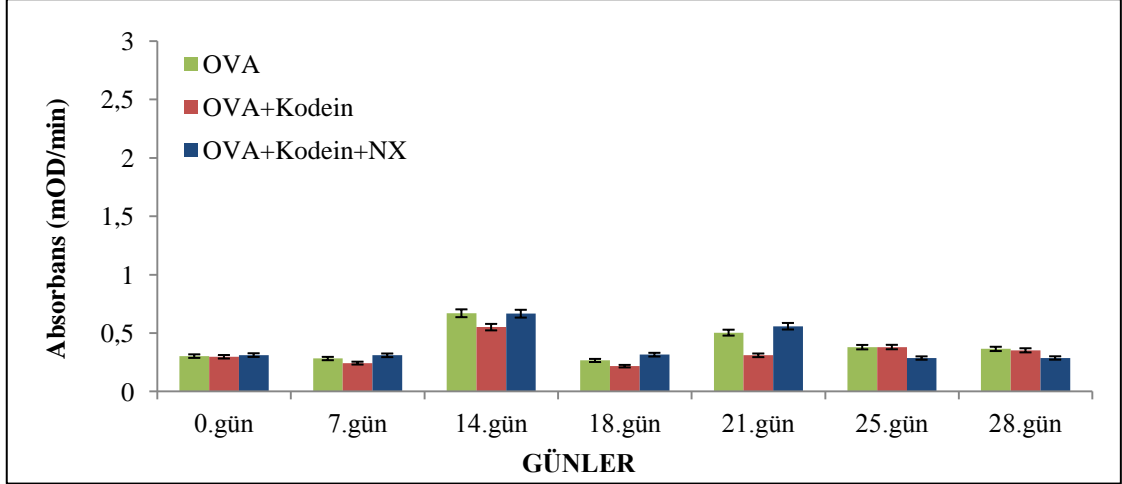


Şekil 4.2. Primer ve sekonder bağışık yanıt

#### 4.1.2. Kodein ve kodein + naltrekson gruplarının IgM sonuçları

Kodein ile enjekte edilmiş farelerde anti-OVA IgM cevabına bakıldığında, OVA ile enjekte edilmiş farelerden farklı olarak özellikle bazı günlerde (14 ve 21. gün) anti-OVA cevabında azalma olduğu, kodeinle birlikte bir opioid antagonisti olan naltrekson (NX) ile enjekte farelerde ise kodeinin neden olduğu immünoşüpresif etkinin ortadan

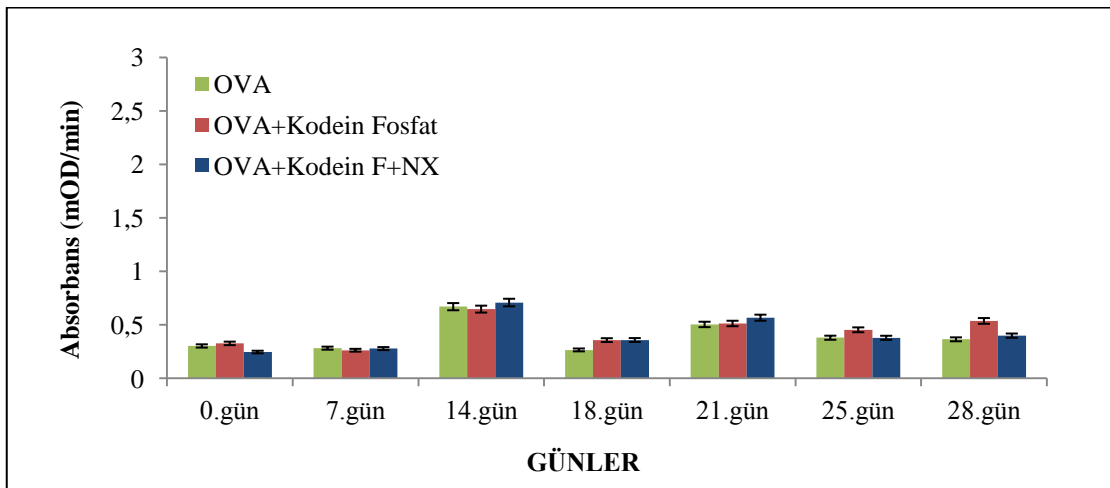
kalktığı ve antikor seviyelerinde belirgin bir artış meydana geldiği görülmüştür (Şekil 4.3).



Şekil 4.3. Kodeinin IgM seviyeleri üzerindeki etkisi

#### 4.1.3. Kodein fosfat ve kodein fosfat +naltrekson gruplarının IgM sonuçları

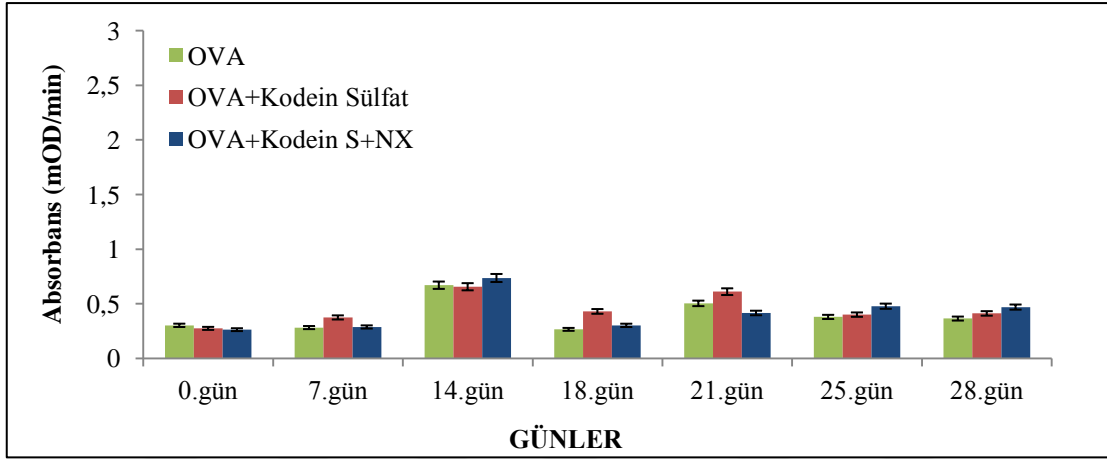
Şekil 4.4.'te tıpta tedavi amaçlı olarak daha fazla kullanımı olan kodein fosfatın IgM antikorları üzerindeki etkileri görülmektedir. Kodein fosfatın anti-OVA IgM cevabını olumsuz yönde etkilemediği, kodein fosfat ile birlikte NX verilen grupta da herhangi bir değişikliğin olmadığı tespit edilmiştir.



Şekil 4.4. Kodein fosfat'ın IgM antikor seviyesi üzerindeki etkisi

#### 4.1.4. Kodein sülfat ve kodein sülfat + naltrekson gruplarının IgM sonuçları

Aynen kodein fosfat grubunda olduğu gibi, kodein sülfatın da anti-OVA IgM seviyelerinde belirgin bir değişikliğe neden olmadığı gözlenmiştir (Şekil 4.5). Kodein sülfat uygulaması anti-OVA IgM antikor seviyelerini etkilemediği için kodein sülfatla birlikte NX verilen farelerde de anti-OVA cevabında herhangi bir değişiklik görülmemiştir.

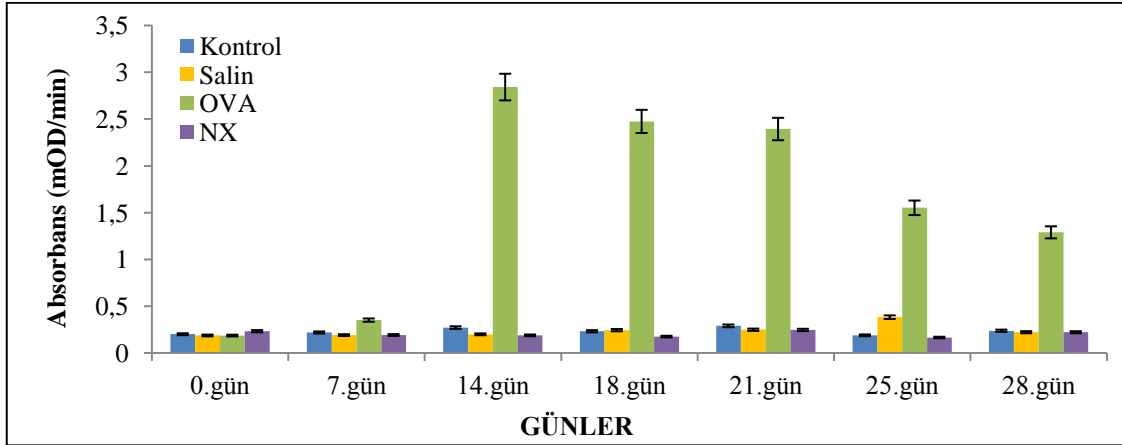


Şekil 4.5. Kodein sülfat'ın IgM antikor seviyesi üzerindeki etkisi

#### 4.2. Anti-OVA IgG Sonuçları

##### 4.2.1. Kontrol -Salin-OVA- Naltrekson Gruplarının IgG Sonuçları

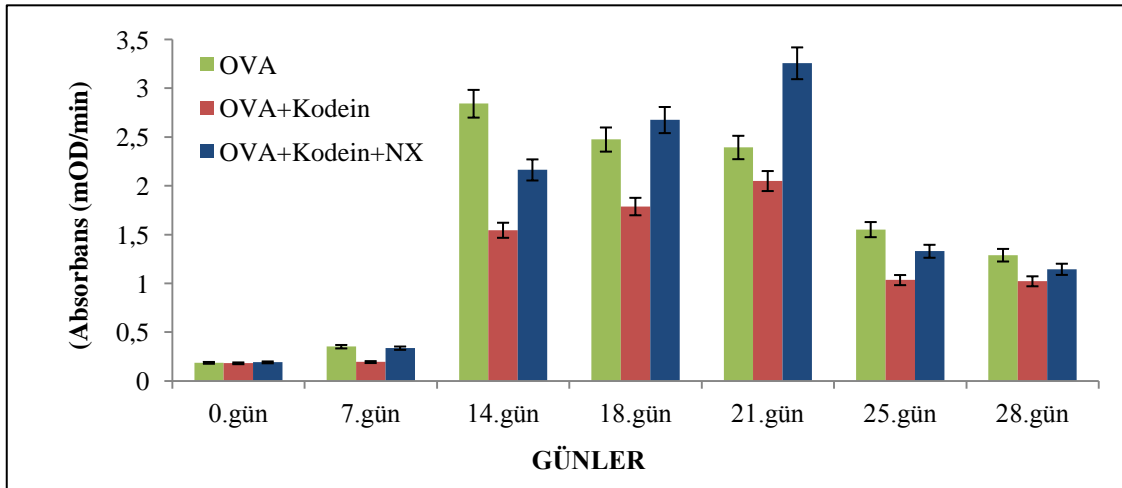
Kontrol, salin, OVA ve yalnızca NX ile enjekte edilen farelerde anti-OVA IgG antikor seviyeleri karşılaştırmalı olarak Şekil 4.6'da verilmiştir. 0. ve 10. günlerde OVA antijeninin verilmesinden sonraki birkaç gün içerisinde (14. gün) OVA ile enjekte edilen farelerde anti-OVA miktarı yaklaşık 9 kat artmış ( $p < 0.001$ ), kontrol, salin ve NX grubu farelerde ise herhangi bir değişiklik görülmemiştir.



Şekil 4.6. Kontrol, salin, OVA ve naltrekson gruplarında IgG antikor seviyeleri

#### 4.2.2. OVA, kodein ve kodein+naltrekson gruplarının IgG sonuçları

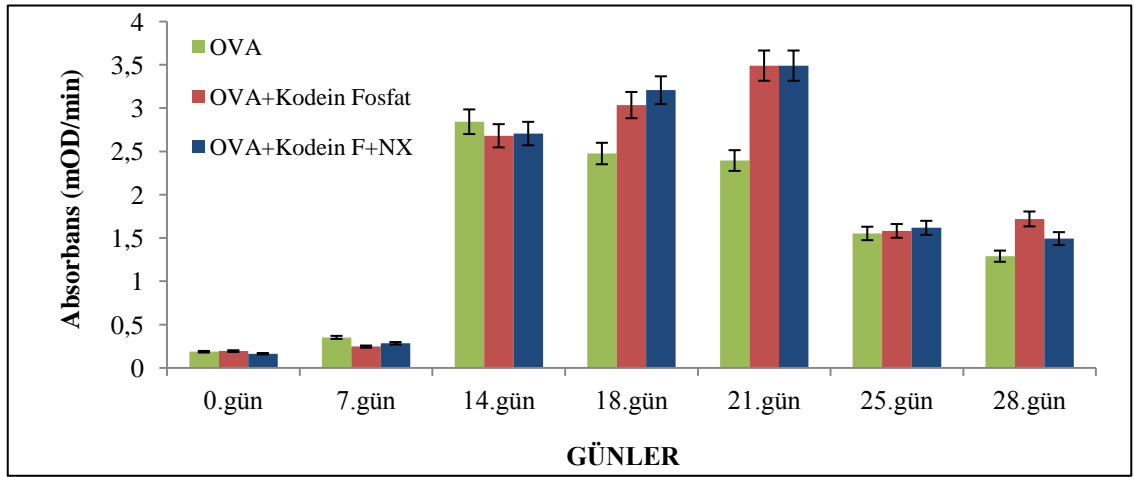
Sadece OVA uygulanan grup ile kodein grubu karşılaştırıldığında IgG miktarında belirgin bir düşüş gözlemlenmiştir. Kodein uygulaması IgG antikor miktarını önemli oranda azaltmıştır. Kodeinin antagonisti olan naltrekson uygulandığında ise kodeinin immunosupresif etkisinin ortadan kalktığı ve IgG antikor miktarının belirgin şekilde artarak ( $p < 0.05$ ) tekrar normal seviyelerine çıktığı gözlemlenmiştir. Sadece naltrekson uygulanan grupta ise naltreksonun IgG antikorunu üzerinde herhangi bir etkisinin olmadığı görülmüştür (Şekil 4.7).



Şekil 4.7. Kodeinin IgG antikor seviyeleri üzerindeki etkisi

#### 4.2.3. Kodein fosfat ve kodein fosfat + naltrekson gruplarının IgG sonuçları

Kodein fosfat uygulanan grup ile OVA uygulanan grup karşılaştırıldığında kodein fosfat uygulamasının IgG antikor seviyesinde bir azalmaya neden olmadığı, hatta gruplar karşılaştırıldığında OVA antijeni uygulanan gruptaki antikor seviyelerine göre kodein fosfatın özellikle 18 ve 21. günlerde IgG antikor seviyesini artırdığı tespit edilmiştir. Kodein fosfatın antagonisti olan naltrekson uygulanan grup incelendiğinde naltreksonun kodein fosfatın etkisi üzerinde herhangi bir etkisinin olmadığı tespit edilmiştir (Şekil 4.8).

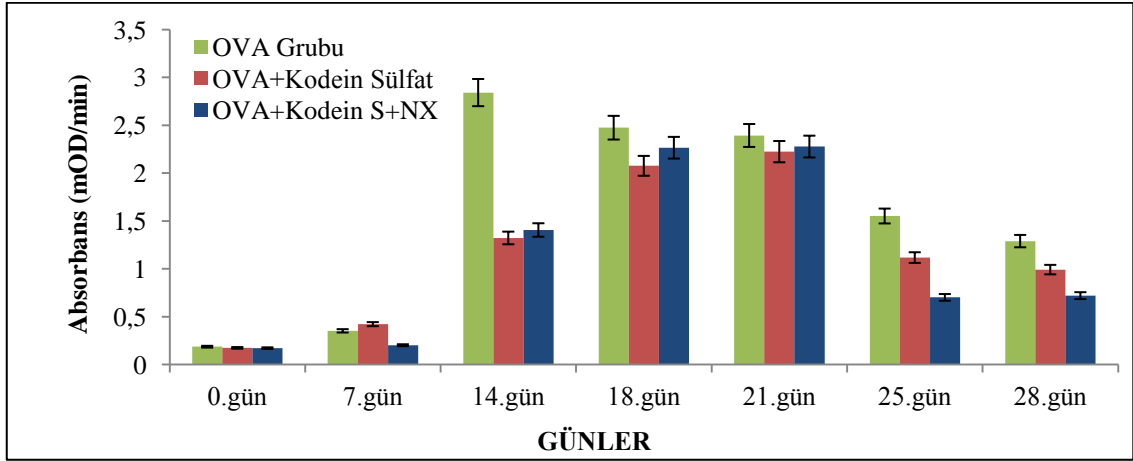


Şekil 4.8. Kodein fosfat uygulamasının IgG antikor miktarı üzerine etkisi

#### 4.2.4. Kodein sülfat ve kodein sülfat + naltrekson gruplarının IgG sonuçları

Kodein sülfat uygulamasının IgG antikor miktarı üzerine etkisi Şekil 4.9'daki grafikte gösterilmiştir. OVA antijeni uygulanan grupta antikor seviyeleri normal bir şekilde artmıştır. OVA uygulanan grup ile kodein sülfat uygulanan grup karşılaştırıldığında, kodein sülfatın 14. günde IgG antikor miktarında belirgin bir düşüşe neden olduğu tespit edilmiştir. Opioid antagonisti olan naltrekson uygulanan grupta ise kodein sülfatın özellikle 18. ve 21. günlerde immünosupresif etkisinin ortadan kalktığı ve IgG antikor miktarının arttığı gözlemlenmiştir.

Kodein sülfatın kodein fosfatla karşılaştırıldığında farelerde antikor seviyesinde daha fazla azalmaya neden olduğu tespit edilmiştir.

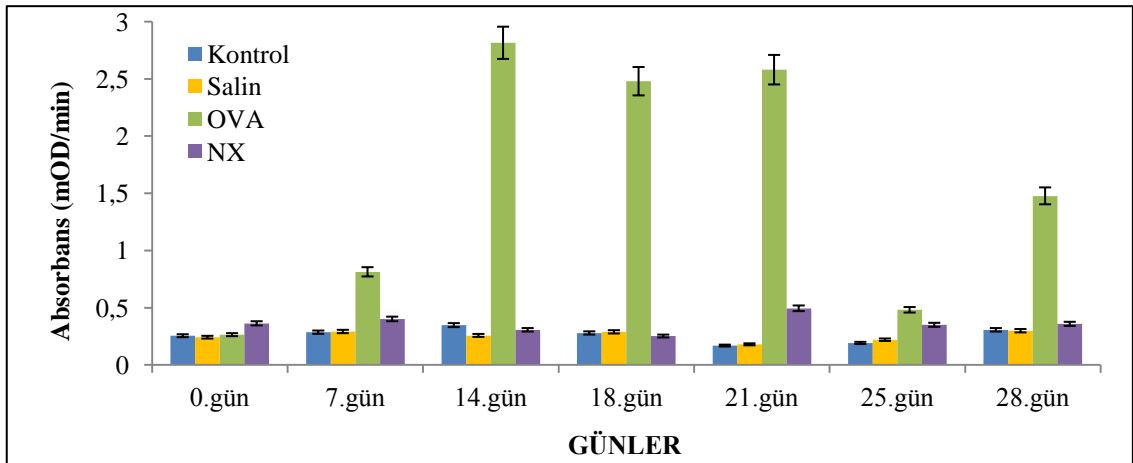


Şekil 4.9. Kodein sülfat uygulamasının IgG antikor seviyeleri üzerindeki etkisi

### 4.3. Anti-OVA Total Ig Sonuçları

#### 4.3.1. Kontrol-salin-OVA-naltrekson gruplarının total Ig sonuçları

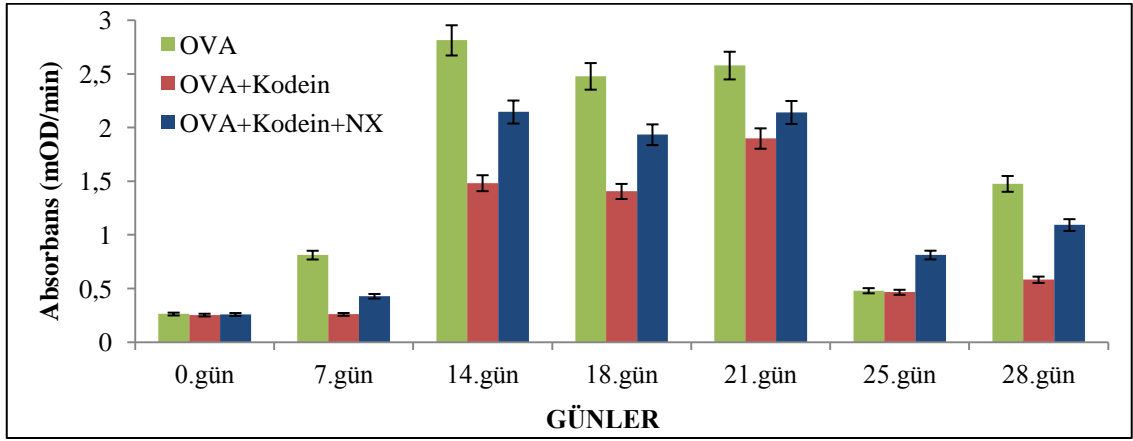
OVA uygulamasının total Ig seviyesi üzerindeki etkisi şekil 4.10'da gösterilmiştir. OVA ile enjekte edilen farelerde total Ig seviyesinin belirgin bir şekilde arttığı gözlemlenmiştir. Antijenin verilmediği kontrol ve salin gruplarında ise total Ig seviyelerinde ise herhangi bir değişim gözlenmemiştir.



Şekil 4.10. Kontrol, salin, OVA ve naltrekson gruplarının total Ig antikor seviyeleri üzerindeki etkisi

#### 4.3.2. Kodein ve kodein + naltrekson gruplarının total Ig sonuçları

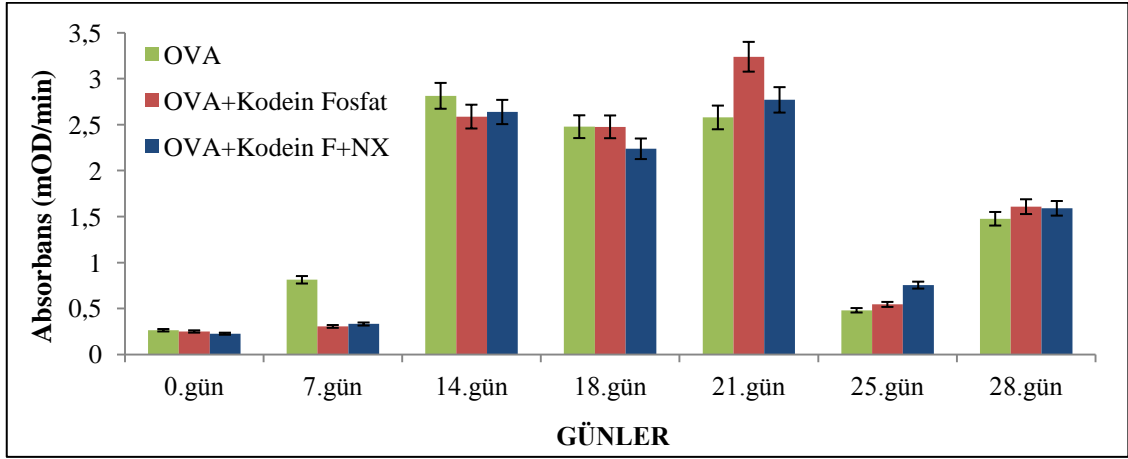
OVA ile birlikte kodein ve kodeinin antagonisti olarak naltrekson uygulanan gruplarda Ig seviyelerindeki değişim Şekil 4.11’de gösterilmiştir. OVA verilen farelerde OVA’nın total Ig antikor miktarını arttırdığı görülmüştür. OVA ile birlikte kodeinin verildiği grupta total Ig antikor seviyesi belirgin olarak azalmıştır. Anti-OVA IgG sonuçlarıyla benzer şekilde, kodeinin antagonisti olan naltrekson verildiğinde ise kodeinin immünosupresif etkisinin ortadan kalktığı ve antikor miktarlarının normal seviyelerine geri döndüğü gözlemlenmiştir.



Şekil 4.11. Kodein uygulamasının total Ig antikor seviyeleri üzerindeki etkisi

#### 4.3.3. Kodein fosfat ve kodein fosfat + naltrekson gruplarının total Ig sonuçları

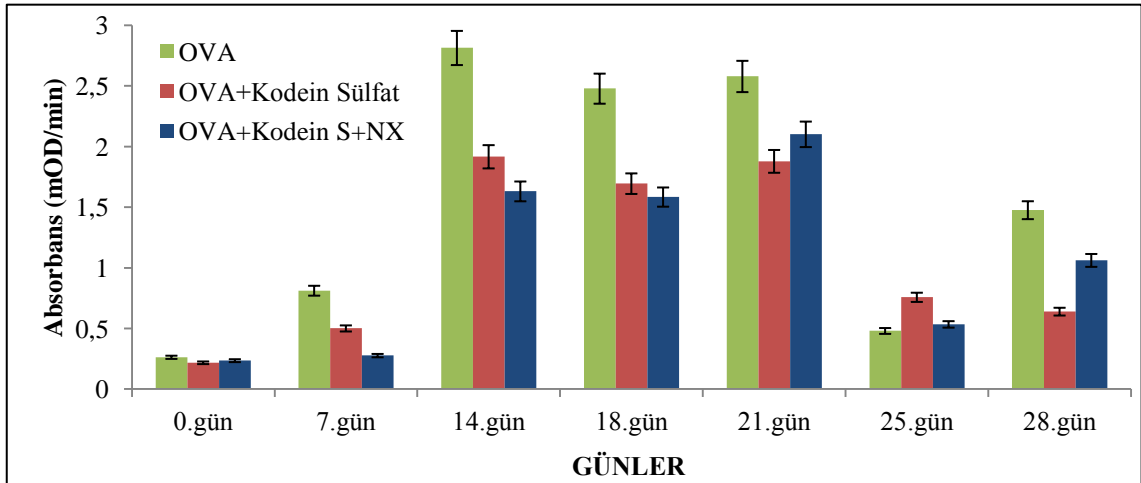
OVA ile birlikte kodein fosfat ve antagonist madde olarak naltrekson uygulamasının total Ig antikor miktarı üzerine etkileri Şekil 4.12’de gösterilmiştir. Kodein fosfat uygulanan grup OVA grubu ile karşılaştırıldığında total Ig seviyelerinin 21. günde arttığı gözlemlenmiştir.



Şekil 4.12. Kodein fosfat uygulamasının total Ig antikor seviyeleri üzerindeki etkisi

#### 4.3.4. Kodein sülfat ve kodein sülfat + naltrekson gruplarının total Ig sonuçları

Kodein sülfat uygulamasının total Ig antikor miktarı üzerindeki etkisi Şekil 4.13’de gösterilmiştir. OVA verilen grupta antikor seviyeleri normal bir şekilde artmıştır. OVA uygulanan grup ile kodein sülfat uygulanan grup karşılaştırıldığında kodein sülfatın total Ig antikor miktarında belirgin bir düşüşe neden olduğu tespit edilmiştir. Kodein sülfatın antagonisti olan naltrekson uygulanan gruplarda ise naltreksonun özellikle 21 ve 28.günlerde antagonist etki gösterdiği gözlemlenmiştir.



Şekil 4.13. Kodein sülfat uygulamasının total Ig antikor seviyeleri üzerindeki etkisi



## 5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Kodein (diğer adıyla 3- metilmorfin) haşhaş bitkisinden doğal olarak elde edilebilen ya da morfinin metilasyonu ile de hazırlanabilen bir alkoloittir. 1883 yılında Jean-Pierre Robiquet tarafından izole edilmiş olup, %3'lük oranı ile morfinden sonra haşhaşta en fazla bulunan alkoloitlerden birisidir (Reynolds, 1996). Kodein morfinden daha zayıf bir narkotik olup hem ağrı kesici etkisi hem de bağımlılık yapma derecesi daha azdır (Armstrong ve Cozza, 2003, Schroeder ve Fahey, 2001). Bu yüzden kodein tıpta diğer ağrı kesicilere (parasetamol, aspirin ve ibuprofen gibi) katılarak daha kuvvetli etki elde etmek ve merkezi sinir sistemini etkileyerek öksürük refleksini ortadan kaldırmak için kullanılmaktadır. Kodeinin alışıklık yapma derecesi daha az olmakla beraber, morfin ve eroin alanlar bunları bulamadıklarında kodeine başvurabilmektedirler.

Saf olarak kodein pür şeklinde elde edilen kodeine, fosfat ve sülfat eklenmesi ile kodein tuzları olarak bilinen kodein fosfat ve kodein sülfat formları elde edilmektedir. Kodein fosfat ya da sülfat vücut tarafından daha kolay absorbe edilebilmeleri nedeniyle tıpta tedavi amaçlı olarak (oral tablet ya da parenteral enjeksiyon şeklinde) daha fazla tercih edilmektedir.

Bu çalışmada farklı şekillerde hazırlanmış olan kodein preparatlarının (kodein pür, kodein fosfat ve kodein sülfatın) farelerde hümmoral bağışık yanıt üzerindeki etkileri araştırılmıştır.

Vücut savunmasında önemli rolleri olan iki tip bağışıklık vardır. Bunlar doğal bağışıklık ve edinsel bağışıklıktır. Edinsel bağışıklık, hümmoral bağışık yanıt ve hüccresel bağışık yanıt olmak üzere iki tip bağışık yanıtta oluşmaktadır. Her iki tip bağışıklıkta antijen ile başlatılır. B lenfositleri hümmoral bağışıklıkta, T lenfositleri ise hüccresel bağışıklıkta görevli lenfosit tipleridir. Hümmoral bağışık yanıt B lenfositlerinin antijenle uyarılmasıyla başlayan ve antikor üretimiyle sonuçlanan olayları içerir. Hümmoral bağışık yanıt sonucu oluşan özgül antikorlar, kan ve doku sıvılarında bakterileri ve patojenleri yok ederek vücut savunmasında rol alırlar. Hümmoral immünite özellikle ekstraselüler patojenlere karşı yanıtta önemlidir (Janeway, 2001).

Yapılan *in vivo* ve *in vitro* çalışmalarda, opioidlerin özellikle de morfinin hem hümmoral hem de hüccresel bağışık yanıt üzerinde immunosüpresif yani bağışıklık sistemini baskılayıcı etkilere sahip olduğu tespit edilmiştir (Filipczak-Bryniarska ve ark., 2012, Sheridan ve Moynihan, 2005). Morfinin *in vivo* antikor üretimini baskıladığı ve morfin kaynaklı immünsüpresyonun T- bağımlı olduğu belirtilmiştir (Weber ve ark., 1986). Bir opioid reseptör antagonisti olan naloxene ya da naltrekson kullanıldığında ise morfin kaynaklı immünsüpresyonun ortadan kalktığı ve tamamen bloke olduğu tespit edilmiştir (Jamali ve ark., 2007, Reisine ve Pasternak, 1996, Hidalgo ve ark., 1991, Lockwood ve ark., 1994). Çalışmaların büyük bir çoğunluğu morfinin doğal bağışıklık üzerindeki etkileri üzerinde yoğunlaşmıştır.

Opioidlerin özellikle de morfinin immun sistem üzerindeki etkileri konusunda birçok çalışma yapılmasına rağmen, terapötik önemi olan kodeinin bağışıklık sistemi üzerindeki etkilerine yönelik kayda değer bir çalışma bulunmamaktadır. Bu çalışmamızda morfiden daha zayıf özellikte, bağımlılık yapma derecesi az olan, antitussif, analjezik ve antidiyareik ilaçlar olarak sıklıkla kullanılan kodeinin bağışıklık sistemi üzerinde ve spesifik olarak da *in vivo* hümmoral bağışık yanıt üzerindeki etkileri araştırılmıştır.

Ovalbumin (OVA) immünolojik araştırmalarda kullanılan önemli antijenlerden birisidir. Çalışmamızda kodein, kodein tuzları ve OVA ile enjekte edilen farelerden serum örnekleri elde edilmiş ve antikor seviyelerindeki değişiklik kompetitif ELISA yöntemi ile belirlenmiştir. OVA ile enjekte edilen fareler kontrol grupları ile karşılaştırıldığında, OVA'nın antikor seviyesini belirgin bir şekilde artırdığı, kodein ile enjekte edilen farelerde ise antijen yani OVA-spesifik antikor seviyelerinde belirgin bir şekilde azalma olduğu tespit edilmiştir. Kodeinin antagonisti olan naltrekson antijen ile birlikte verildiğinde ise naltreksonun kodeinin etkisini bloke ettiği ve antikor seviyelerinde tekrar yükselme olduğu tespit edilmiştir.

Bu çalışmamızdan elde edilen sonuçlar daha önce morfin kullanılarak sıçanlar üzerinde yapılan bir çalışmanın sonuçları ile de uyumludur. Lockwood ve ark., (1994) tarafından yapılan çalışmada Sprague-Dawley ve Fischer cinsi sıçanlara intraperitoneal olarak KLH antijeni verilmiş ve bunu damar içi salın ya da değişen dozlarda morfin sülfat enjeksiyonu izlemiştir. Kortikosteron ve anti-KLH IgG antikor cevapları ölçülmüştür.

Morfinin verildiği farelerde anti-KLH IgG antikorlarının önemli ölçüde azaldığı, fakat bu etkilerin ırka ve doza bağlı olduğu belirtilmiştir. Sprague-Dawley sıçanlarında morfinin 1.5, 5 ve 15 mg/kg'lık dozları antikor cevabını değiştirmezken morfinin 3 ve 10 mg/kg'lık dozlarının antikor seviyesini azalttığı tespit edilmiştir. Fischer 344 sıçanlarında ise, 10 ve 15 mg/kg'lık dozlar antikor seviyelerini değiştirmezken morfinin 5 mg/kg'lık dozu antikor seviyelerini azaltmıştır. Morfinin antikor seviyesini düşürdüğü ve düşüşün kortikosteronun yüksek miktarı ile ilişkili olmadığı belirtilmiştir. Opioid bağlanmasının bu değişikliklerde kritik olduğunu belirlemek için, hayvanlara morfin verilmeden önce bir opioid antagonist madde olan naltrekson verilmiştir. Naltrekson kortikosteron seviyesini kısmen azaltmış fakat immün fonksiyon üzerindeki morfin kaynaklı değişiklikleri tamamıyla bloke etmiştir. Bizim çalışmamızda da özellikle kodeinin 10 mg/kg'lık dozunun farelerde aynı etkiyi gösterdiği ve antikor seviyelerinde belirgin bir düşüşe neden olduğu tespit edilmiştir.

Başka bir çalışmada ise (Filipczak- Bryniarska ve ark., 2012), fareler intraperitoneal olarak birkaç gün opioidler ile tedavi edilmiş ve daha sonra antikor üretimini test etmek amacıyla koyun kırmızı kan hücreleri (sRBC) ile aşılansın ya da kontak hipersensitiviteyi indüklemek için hapten PCL (picryl chloride) ile cilt uyarılmıştır. Opioidler makrofajlar üzerindeki antijen sunumu belirteçlerinin ekspresyonunu azaltmıştır. Anti-SRBC plak oluşturan hücrelerin (PFC) sayısı ve antikor titreleri, test edilen bütün opioidlerle muamele edilen farelerde düşük bulunmuştur.

Bizim çalışmamızda farklı olarak antijen (OVA) ile tek başına, antijene ilave olarak haşhaş alkaloitleri (kodein pür, kodein sülfat, kodein fosfat) ve opioid antagonisti (naltrekson) ile enjekte edilen farelerden alınan serum örneklerindeki antikor miktarı (IgG, IgM, Ig) ELISA yöntemi ile tespit edilmiştir. Morfin kodeine göre daha güçlü bir aneljezik madde olması nedeniyle antikor seviyelerinde daha fazla düşüşe neden olabilir. Ancak bizim çalışmamızda kullandığımız kodeinin daha zayıf etkiye sahip olmasına rağmen antikor seviyelerini aynen morfin de olduğu gibi belirgin şekilde azaltması bizim hipotezimizi de desteklemektedir.

Bir başka çalışmada ise (Flores, L.R., Wahl, S.M., ve Bayer, B.M. 1995), akut morfin uygulamasının sıçanlarda periferik kan lenfosit aktivitesini nasıl önlediğine dair potansiyel mekanizmaları araştırmak amacıyla yapılan çalışmada seçici bir reseptör

agonisti olan fentanilin kan lenfosit proliferasyonunu önlediği tespit edilmiştir. Opioid reseptör antagonisti naltrekson ile yapılan ön tedavi morfinin inhibitör etkisini tamamen bloke etmiştir. Bizim çalışmamızda kodein ve OVA ile enjekte edilen farelerin serum örnekleri incelendiğinde antikor seviyelerinde belirgin bir düşüş gözlenmiş, ancak opioid antagonisti olan naltrekson ile muamele edilmiş farelerde ise kodeinin immünosüpresif etkisinin ortadan kalktığı tespit edilmiştir. Daha önce morfinle yapılan çalışmalar da dikkate alındığında, opioid reseptör antagonisti olan naltreksonun hem morfin kaynaklı hem de kodein kaynaklı immünosüpresyonu bloke ettiği görölmektedir.

Daha önce yapılan çalışma sonuçları ve bu çalışmamızdaki bulgulardan hareketle morfinden daha az analjezik etkiye sahip bağımlılık yapma derecesi az olan ve tıpta tedavi amaçlı antitussif, analjezik ve antidiareik ilaçlar olarak sıklıkla kullanılan kodeinin, özellikle organizmaların hastalıklara karşı savunmasında önemli rolü olan humoral bağışık yanıt üzerinde immünosüpresif etkisinin olduğu tespit edilmiştir. Bu projenin uzun dönem hedeflerinin başında kodeinin hangi mekanizma ile hümorale bağışık yanıtı baskıladığı, antikorların hangi izotipleri (IgG1, IgG2a gibi) ve hangi tip sitokinlerin sentezi üzerinde etkisi olduğunun belirlenmesi gelmektedir. Özellikle kodeinin tedavi amaçlı olarak kullanıldığı hastalıklarda, bu alkaloidin humoral bağışık yanıt üzerindeki muhtemel olumsuz etkilerinin nasıl ortadan kaldırılabileceğinin belirlenmesi önem arz etmektedir.

## 6. KAYNAKLAR

- Abbas AK, Lichtman AH. Basic immunology: functions and disorders of the immune system. 2nd ed. Philadelphia, PA: W.B Saunders Co, Updated edition 2006-2007.
- Abbas AK, Lichtman AH, Pober JS, eds. B cell activation and antibody production. In Cellular and Molecular Immunology. 4th ed. Philadelphia, W.B Saunders Company, 2000. pp192-207.
- Abul K. Abbas, Andrew H. Lichtman, Jordan S. Pober, W.B. Cellular and Molecular Immunology 4th Edition Saunders Company
- Adesola Odunayo, DVM, MS; John R. Dodam, DVM, MS, PhD, DACVA; Marie E. Kerl, DVM, DACVIM, DACVECC and Amy E. Declue, DVM, MS, DACVIM. (2010). Immunomodulatory effects of opioids. Journal of Veterinary Emergency and Critical Care 20 (4) 2010, Pp 376–385 doi: 10.1111/j. 1476-4431. 2010. 00561 .x.
- Akira S, Uematsu S, Takeuchi O. Pathogen recognition and innate immunity Cell 2006; 124: 783-801.
- Al-Hasani, R. ve Bruchas, M.R. (2011). Molecular mechanisms of opioid receptor dependant signaling and behavior. Anesthesiology, 115 (6), 1363-1381.
- Armstrong SC and Cozza KL. Pharmacokinetic drug interactions of morphine, codeine, and their derivatives: theory and clinical reality, Part II, Psychosomatics. 44:515-520, 2003.
- Asıcıoğlu F, Özcan M, Saygılı S, İraz M, Okudan M, İlhan L. Expert opinion on codeine and codeine containing drugs. J For Med 2013;27(3):189-98 doi:10.5505/adlitip.2013.97830
- Atamer - Şimşek, Ş. (1991). Opiat Reseptörleri. Psikofarmakolojide Yenilikler Sempozyumu 1991 İstanbul.
- Barnett, N.W., Hindson, B.J., Lewis, S.W. ve Purcell, S.D. (1998). Determination of codeine, 6-methoxycodone and thebaine using capillary electrophoresis with tris (2,2'-bipyridyl)ruthenium (II) chemiluminescence detection. Analytical Communications, 35, 321-324.
- Bayer BM, Daussin S, Hernandez M, et al. Morphine inhibition Of lymphocyte activity is mediated by an opioid dependent mechanism. Neuropharmacology 1990; 29(4):369–374.
- Bhandari, M., Bhandari, A. ve Bhandari, A. (2011). Recent updates on codeine. Pharmaceutical methods, 2, 3-8.
- Budd K. Pain, the immune system and opioimmunotoxicity. Rev Analgesia 2004; 8:1/10.
- Cabioğlu, Tuğrul. Endojen Opioidler; Genel Tıp Dergisi 2001;11(4)
- Campbell , Jane B. Reece , Lisa A. Urry , Michael L. Cain , Steven A. Wasserman , Peter V. Minorsky , Robert B. Jackson. (tarih yok). *Campbell Biyoloji*. Palme Yayınevi. Dökmeçi İ, Dökmeçi AH. Türkiye İlaç Rehberi. 4.baskı, Nobel Tıp Kitapevleri Ltd.Şti, İstanbul, 2004.
- Düzgün, N. (2008). İmmün Sistemin Tanıtımı.
- Fecho K, Maslonek KA, Dykstra LA, et al. Assessment of the involvement of central nervous system and peripheral opioid receptors in the immunomodulatory

- effects of acute morphine treatment in rats. *J Pharmacol Exp Ther* 1996; 276: 626/36.
- Filipczak – Bryniarska, I., Nowak, B, Sikora, E., Nazimek, K., Woron, J., Wordliczek, J., ve Bryniarski, K. 2012. The influence of opioids on the humoral and cell – mediated immune responses in mice. The role of macrophages. *Pharmacological Reports*. 64: 1200-1215.
- Flores, L.R., Wahl, S.M., ve Bayer, B.M 1995. Mechanisms of morphine-induced immunosuppression: Effect of acute morphine administration on Lymphocyte trafficking. *The Journal Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 272: 1246-1251.
- Howard BG, Huda A. Opioid analgesics, In: Hardman JG, Limbird LE, Goodman A, eds. *Goodman&Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics*. 10th Edition. McGraw Hill, New York, 2001.
- Hunt, D.M. (2015). Grip. In: *Mikrobiyoloji ve İmmünoloji On-line* , Hunt, RC editörü.
- Iwona Filipczak-Bryniarska, Bernadeta Nowak, Emilia Sikora, Katarzyna Nazimek, Jarosaw Woron, Jerzy Wordliczek, Krzysztof Bryniarski. (2012). The influence of opioids on the humoral and cell mediated immune response in mice. The role of macrophages.
- Jensen PE. Recent advances in antigen processing and presentation. *Nat Immunol* 2007; 8(10):1041-8.
- Jr Janeway CA, Travers P, Walport M, Shlomchik MJ (eds). *Antigen recognition by B-cell and T-cell receptors*. Immunobiology. 6th edition. New York USA: Garland Scie
- Jordan, B. ve Devi, L.A. (1998). Molecular mechanism of opioid receptor signal transduction. *British Journal of Anaesthesia*, 81, 12-19. nce;2005, pp:103-134.
- J. W. Van Der Laan, E. I. Krajnc, M. A. M. Krajnc-Franken, H. Van Loverens. (1994, october). *Immunotoxicological Screening of Morphine and Methadone*. Laboratory for Medicines and Medical Devices, 'Laboratory for Toxicology, and SLaboratory for Pathology,.
- Kılıçturgay, K. Güneş *İmmünolojiye Giriş Nobel Tıp Kitabevleri*, 3. Baskı, Bursa, 1994
- Kabalitz D, Medzhitov R. Innate immunity-cross-talk with adaptive immunity through pattern recognition receptors and cytokins. *Curr Opin Immunol* 2007; 19:1-3.
- Koff WC, Dunegan MA. Modulation of macrophage-mediated tumoricidal activity by neuropeptides and neurohormones. *J Immunol* 1985; 135(1):350–354.
- Küçük Y. , 1996, ' Türkiye'nin çeşitli yörelerinde yetiştirilen haşhaş bitkilerinde alkaloidlerin ekstraksiyonu ve ekstraksiyonların susuz ortamlarda özelliklerinin incelenmesi', Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara
- Lockwood, L. L., Silbert, L.H., Fleshner, M., Laudenslager, M.L., Watkins, L.R., ve Maier, A. S.F. 1994. Morphine induced decreases in vivo antibody responses. *Brain, Behaviour and Immunity*. 8, 24-36.
- Male D Cell migration and inflammation. Roitt I, Brostoff J, Male D (eds) . In *Immunology* 6th ed. Mosby , 2001, pp 47-49
- Martindale: *The Compleat Drug Referance*. The Pharmaceutical Press, London, 2007.
- McCarthy L, Wetzel M, Sliker JK, et al. Opioids, opioid receptors, and the immune response. *Drug Alcohol Depend* 2001; 62(2): 111–123.
- Mirja Plein, L., & Rittner, H. (2017). Opioids and the immune system – friend or foe. *British Journal of Pharmacology*.

- Mosmann T. Cytokines and immune regulation. Rich RR, (ed.): Clinical Immunology, Principles and Practice. Mosby, Missouri, 1996, pp.217-230.
- Mossmann TR, Coffman RL. TH1 and TH2 cells: different patterns of lymphokine secretion lead to different functional properties. *Annu Rev Immunol* 1985;7: 145-73.
- M, Takahashi T. Immunologic tolerance maintained by CD25+CD4+ regulatory T cells: their common role in controlling autoimmunity , tumor immunity and transplantation tolerance. *Immunological Review* 2001;182: 18-32.
- Opal SM, DePalo VA. Anti-Inflammatory Cytokines. *Chest* 2000; 117:1162-1172.
- Özden S.Y. Uyuşturucu Madde Bağımlılığı. Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul. 2004.
- Pamer E, Cresswell P. Mechanisms of MHC class I-restricted antigen processing. *Annu Rev Immunol* 1998;16:323-58.
- Paola Sacerdote, Barbara Manfredi, Paolo Mantegazza & Alberto E. Panerai. (1997). Antinociceptive and immunosuppressive effects of opiate drugs: a structure-related activity study. *British Journal of Pharmacology*, Milano, Italy.
- Parham P. Virtual reality in the MHC. *Immunol Rev* 1999;167, 5-15.
- Pieters J. MHC class II restricted antigen presentation. *Curr Op Immunol* 1997;9:89-96.
- Lisanne Mirja Plein and Heike L, Rittner *British Journal of Pharmacology* (2018) 175 2717- 2725 2717.
- Polson CJ, Green MA, Lee MR. *Clinical Toxicology*. 3rd Edition. Pitman Books Limited, London, 1983.
- Raffa, R.B., Netter, F.H. Rawls, S.M. ve Beyzarov, E.P. (2004). Netter's Illustrated Pharmacology. <http://www.netterimages.com/image/11129.htm>. 19 Şubat 2014.
- Randall CB. *Disposition of Toxic Drugs and Chemicals in Man*. 7th Edition. Biomedical Publication, Foster City, California, 2004.
- Reece, Jane B. ve diğerleri. *Campbell Biyoloji*. 9. basım. Çev. Ertunç Gündüz ve İsmail Türkan. Ankara: Palme Yayınevi, 2013.
- Reynolds, JEF. *Martindale The Complete Drug Reference*. 31st Edn.UK. The Royal Pharmaceutical Publications Department 29. 1996.
- Roitt I, Brostoff J (eds), *Antibodies*. In *Immunology* 6th edition, Spain Mosby , 2001,pp 65-85.
- Roy S, Ramakrishnan S, Loh HH, et al. Chronic morphine treatment selectively suppresses Macrophage Colony Formation İn bone marrow. *Eur J Pharmacol* 1991; 195(3):359–363.
- Roy S, Wang J, Gupta S, et al. Chronic morphine treatment differentiates t helper cells to th2 effector cells by modulating transcription factors gata 3 and t-bet. *J Neuroimmunol* 2004;147(1–2):78–81.
- Roy S, Wang J, Kelschenbach J, et al. Modulation of immune function by morphine: implications for susceptibility to infection. *J Neuroimmune Pharmacol* 2006; 1(1):77–89.
- Roy S, Ninkovic J, Banerjee S, Charboneau RG, Das S, Dutta Ret al. (2011). Opioid drug abuse and modulation of immune function: consequences in the susceptibility to opportunistic infections. *J Neuroimmune Pharmacol* 6: 442–465.
- Sacerdote P, Manfredi B, Mantegazza P, Panerai AE (1997). Antinociceptive and immunosuppressive effects of opiate drugs: a structure-related activity study. *Br J Pharmacol* 121: 834–840.

- Sacerdote P, Limiroli E, Gaspani L. Experimental evidence for immunomodulatory effects of opioids. *Adv Exp Med Biol* 2003; 521: 106/16.
- Sacerdote, P. (2006). Opioids and the immune system. *Palliative Medicine*.
- Sacerdote P. Opioid-induced immunosuppression. *Curr Opin Support Palliat Care* 2008; 2(1):14–18.
- Sakaguchi S, Sakaguchi N, Shimizu J , Yamazaki S, Sakihama T, Itoh M, Kuniyasu Y, Nomura T, Toda
- Sakaguchi S. Regulatory T cells Springer Semin immunopathol 2006; 28:1-2.
- Schroeder K, Fahey, T. ‘Over-the-counter medications for acute cough in children and adults in ambulatory settings’. *Cochrane Database Syst Rev*: CD001831. 2001.
- Shavit Y, Lewis JW, Terman GW, et al. Opioid peptides Mediate the suppressive effect of stress on natural killer cell Cytotoxicity. *Science* 1984; 223(4632):188–190.
- Singhal PC, Sharma P, Kapasi AA, et al. Morphine Enhances macrophage apoptosis. *J Immunol* 1998; 160(4):1886–1893.
- Şengül, A. (2008). Hücresel İmmün Yanıt. *Türkiye Klinikleri J Inf Dis-Special Topics*.
- Takeda K, Akira S, Toll-like receptors in innate immunity. *Int Immunol* 2005;17: 1-14.
- Vallejo R, de Leon-Casasola O, Benyamin R. Opioid therapy and immunosuppression. *Am J Ther* 2004; 11: 354/65.
- Yaksh, T. (2013). Opioid analgesics. [http://pharmacology.ucsd.edu/Graduate/Courseinfo/BIOM255-SP13-yaksh revised opiate %20 Analgesics %202013-TY. pdf](http://pharmacology.ucsd.edu/Graduate/Courseinfo/BIOM255-SP13-yaksh%20revised%20opiate%20Analgesics%202013-TY.pdf) . 14 Mayıs 2014.
- Yeager MP, Colacchio TA, Yu CT, et al. Morphine inhibits spontaneous and cytokine-enhanced natural killer cell cytotoxicity In volunteers. *Anesthesiology* 1995; 83(3):500–508
- Yeager MP, Colacchio TA. Effect of morphine on growth of metastatic colon cancer *in vivo*. *Arch Surg* 1991; 126: 454/56.



## 8. ÖZGEÇMİŞ

### Kişisel Bilgiler

**Adı Soyadı** : Anıl GÜNGÖR  
**Uyruğu** : T.C  
**Doğum Tarihi ve Yeri** : 06.07.1990 - Ordu/Akkuş  
**Telefon** : 0(507) 0091652  
**e-mail** : [anilgungor5255@gmail.com](mailto:anilgungor5255@gmail.com)

### Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet Tarihi
Lise	Ünye Endüstri Meslek Lisesi Elektronik bölümü	2009
Üniversite	Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Fen Edebiyat	2014
Yüksek Lisans	Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Fen Edebiyat	2019