**T.C.**
**TRAKYA ÜNİVERSİTESİ**
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**
**TIBBİ FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI**
**YÜKSEK LİSANS PROGRAMI**

Tez Yöneticisi
Prof. Dr. Ahmet ULUGÖL
İkinci Tez Yöneticisi
Yrd. Doç. Dr. Özgür GÜNDÜZ

# SİSTEMİK UYGULANAN KANNABİNOİD AGONİSTİ WIN 55,212-2 VE MORFİNİN ANTİNOSİSEPTİF ETKİLERİNDE SPİNAL 5-$HT_{5A}$ RESEPTÖRLERİNİN KATILIMI

**(Yüksek Lisans Tezi)**

**Ahmet Göktan AKSU**

**Referans no: 10067481**

EDİRNE-2017

**T.C.**
**TRAKYA ÜNİVERSİTESİ**
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**
**TIBBİ FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI**
**YÜKSEK LİSANS PROGRAMI**

Tez Yöneticisi
Prof. Dr. Ahmet ULUGÖL
İkinci Tez Yöneticisi
Yrd. Doç. Dr. Özgür GÜNDÜZ

# SİSTEMİK UYGULANAN KANNABİNOİD AGONİSTİ WIN 55,212-2 VE MORFİNİN ANTİNOSİSEPTİF ETKİLERİNDE SPİNAL 5-$HT_{5A}$ RESEPTÖRLERİNİN KATILIMI

**(Yüksek Lisans Tezi)**

**Ahmet Göktan AKSU**

**Destekleyen Kurum:** TÜBAP-2016/44

**Tez No:**

EDİRNE-2017

T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitü Müdürlüğü

# O N A Y

Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı çerçevesinde ve Prof. Dr. Ahmet ULUGÖL'ün danışmanlığında Yüksek Lisans öğrencisi Ahmet Göktan AKSU'ya ait tez başlığı "Sistemik Uygulanan Kannabinoid Agonisti WIN 55,212-2 ve Morfinin Antinosiseptif Etkilerinde Spinal 5-$HT_{5A}$ Reseptörlerinin Katılımı" olarak teslim edilen bu tezin tez savunma sınavı 07.02.2017 tarihinde yapılarak aşağıdaki jüri üyeleri tarafından **"Yüksek Lisans Tezi"** olarak kabul edilmiştir.

**Prof. Dr. Ahmet ULUGÖL**
**JÜRİ BAŞKANI**

**Doç. Dr. Coşkun SILAN**
**ÜYE**

**Prof. Dr. Ç. Hakan KARADAĞ**
**ÜYE**

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

**Prof. Dr. Tammam SİPAHİ**
**Enstitü Müdürü**

## TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimimde bana destek olan öncelikle tez danışmanlarım Prof. Dr. Ahmet ULUGÖL ve Yrd. Doç. Dr. Özgür GÜNDÜZ'e daha sonra Prof. Dr. Ç. Hakan KARADAĞ'a ve Prof. Dr. Dikmen DÖKMECİ'ye, tez yapımı aşamasında yardımlarıyla başarıya ulaşmamı sağlayan Kübra DUVAN AYDEMİR'e, manevi desteklerinden dolayı aileme, Ahmet UYSAL'a, Halil YÜKSELOĞLU'na, maddi desteklerinden ötürü TÜBAP'a teşekkür ediyorum.

# İÇİNDEKİLER


GİRİŞ VE AMAÇ ..... 1
GENEL BİLGİLER ..... 3
AĞRININ TANIMI ..... 3
NOSİSEPSİYON ..... 4
AĞRININ İLETİM FİZYOLOJİSİ ..... 4
AĞRININ SINIFLANDIRILMASI ..... 5
PRİMER AFERENT İLETİM ..... 8
ARKA BOYNUZ ..... 9
NOSİSEPTİF ÇIKICI SİSTEMLER ..... 11
BEYİN ..... 11
ANTİNOSİSEPTİF İNİCİ SİSTEMLER ..... 12
SEROTONİN (5-HT) VE RESEPTÖRLERİ ..... 13
OPİOİDLER VE RESEPTÖRLERİ ..... 15
MORFİN ..... 18
KANNABİNOİDLER ..... 19
GEREÇ VE YÖNTEMLER ..... 22
BULGULAR ..... 29
TARTIŞMA ..... 48
SONUÇLAR ..... 55
ÖZET ..... 56
SUMMARY ..... 57

**KAYNAKLAR** ..... **58**
**ŞEKİLLER LİSTESİ** ..... **65**
**ÖZGEÇMİŞ** ..... **67**
**EKLER**

## SİMGE VE KISALTMALAR

**AEA** : Araşidoniletanolamid (Anandamid)
**CB1** : Cannabinoid-1 receptor
**CB2** : Cannabinoid-2 receptor
**CCK** : Cholecystokinin (Kolesistokinin)
**CGRP** : Calcitonin gene releated peptide
**EPSP** : Eksitatör post-sinaptik potansiyel
**GABA** : Gama aminobutirik asit
**GPCR** : G-protein coupled receptor
**5-HT** : 5-hidroksitriptamin (Serotonin)
**IASP** : International Association for the Study of Pain
**İ.t.** : İntratekal
**İ.p.** : İntraperitoneal
**İPSP** : İnhibitör post-sinaptik potansiyel
**MOE** : Maksimal olası etki
**NA** : Noradrenalin
**NOP** : Nosiseptin/orfanin FQ reseptörleri
**NMDA** : N-metil-D-aspartat
**NRM** : Nükleus rafe magnus
**NSAİİ** : Non-steroidal antiinflamatuvar ilaçlar
**PAG** : Periakuedüktal gri cevher
**POMK** : Proopiyomelanokortin
**RVM** : Rostral ventromedial medulla

**SG** **:** Substantia gelatinosa

**SSS** **:** Santral sinir sistemi

**THC** **:** Tetrahidrokannabinol

**TRP** **:** Transient receptor potential

**VLO** **:** Ventrolateral orbital korteks

**VPL** **:** Ventral posterolateral

**VTA** **:** Ventral tegmental alan

# GİRİŞ VE AMAÇ

Ağrı, sıkça görülen, çok boyutlu (nörofizyolojik, biyokimyasal, psikolojik, etnokültürel, dinsel, bilişsel, ruhsal ve çevresel) bir deneyim olmakla birlikte kişide doku harabiyeti ve fizyopatolojik değişiklikler olmadan da duyumsanabilen bir olgudur. Kişiler bu olguyu yaşamları boyunca deneyimlerler (1,2). Ağrı mekanizmalarının aydınlatılması ile yeni ilaçların bulunması, var olan ilaçların geliştirilmesi kolaylaşacak ve hız kazanacaktır.

Opioidler, başta morfin olmak üzere şiddetli ağrıların tedavisinde sıklıkla kullandığımız güçlü analjeziklerdendir (3). Uzun yıllardır kullanılmalarına rağmen etki mekanizmaları tam olarak aydınlatılamamıştır. Ayrıca, istenmeyen etkileri nedeniyle de opioid tedavisi halen istenilen noktaya gelememiştir (4). Birçok farmakolojik özellikleri açısından opioidlere çok benzerlik gösteren kannabinoidler ise analjezik etkileri için yüzyıllardır kullanılmaktadır, ancak bu grubun da istenmeyen etkileri ve kötüye kullanılma potansiyeli olduğundan tedavide etkin olarak yer alamamıştır (5). Son yıllarda, uzun süren çalışmalar sonucunda öncelikle Amerika Birleşik Devletleri, Kanada, daha sonra Avrupa'daki birçok ülkede nöropatik ağrı, multipl skleroz vb. endikasyonlar için onay almışlardır. Önümüzdeki yıllarda kullanımlarının daha da artması beklenmektedir.

Günümüzde gerek opioidlerin gerekse kannabinoidlerin antinosiseptif etkilerini açığa çıkarmaya yönelik çok sayıda araştırma yapılmaktadır. Bunlar arasında bazı spinal serotonin (5-hidroksitriptamin, 5-HT) reseptörlerinin, örneğin 5-$HT_7$, opioid ve kannnabinoidlerin antinosiseptif etkilerinde çok önemli rolü olduğu gösterilmiştir (5).

Serotonin, periferde ve santral sinir sisteminde yaygın bir şekilde dağılmış bir monoamindir. Vücutta birçok fonksiyonda rol oynamasının yanı sıra, nosisepsiyondaki rolü çok önemlidir. Sistemik 5-HT uygulaması genel olarak pronosiseptif bir etkinlik gösterirken, spinal uygulaması düşük dozlarda antinosiseptif yüksek dozlarda ise yine pronosiseptif etkinlik ortaya çıkarabilmektedir. Günümüzde 7 tip 5-HT reseptörü bilinmekte olup bunların çok sayıda alt tipi bulunmaktadır. 5-HT'nin net etkisi sadece doza ve hayvanın patofizyolojik durumuna değil, aynı zamanda bu reseptör alt tiplerine göre de değişkenlik gösterir. Bazı 5-HT reseptör alt tiplerinin pronosiseptif etkiye aracılık ettiği, bazılarının ise antinosiseptif etkilere aracılık ettiği gösterilmiştir (6). 5-$HT_{5A}$ reseptörleri, üzerinde en az araştırma yapılmış olan 5-HT reseptör alt tipi olup yakın zamanda spinal 5-$HT_{5A}$ reseptörlerinin farklı ağrı modellerinde 5-HT ve fluoksetin tarafından oluşturulan antinosiseptif etkiye aracılık ettiği gösterilmiştir (7,8).

Bu verilerden yola çıkarak yaptığımız araştırmamızda, sistemik olarak farklı dozlarda kannabinoid agonisti WIN 55,212-2 ve opioid agonisti morfin uygulandıktan ve 2 saat boyunca antinosiseptif etkileri gözlendikten sonra, önceden 5-$HT_{5A}$ antagonisti verilerek 5-$HT_{5A}$ reseptörleri bloke edilmiş farelere opioid ve kannabinoid agonistleri verilerek spinal 5-$HT_{5A}$ reseptörlerinin opioid ve kannabinoidlerin antinosiseptif etkilerine aracılık edip etmediğini değerlendirmeyi hedefledik.

# GENEL BİLGİLER

## AĞRI TANIMI

Ağrı kontrolü klinik tıbbın uğraştığı en büyük sorunlardan biridir. Periferik sinirler ve santral sinir sistemindeki (SSS) karmaşık nörokimyasal süreçler sonucunda ortaya çıkan bir olgudur. Subjektif bir histir, bu hissi taşıyan canlının tanımlamaları büyük önem taşır (9-12).

Uluslararası Ağrı Araştırma Teşkilatı (International Association for the Study of Pain, IASP) tarafından yapılan tanıma göre ağrı; "Var olan veya olası doku hasarına eşlik eden veya bu hasar ile tanımlanabilen, hoşa gitmeyen duysal ve duygusal bir deneyimdir." (10,11,13,14).

Ağrı, bilinç durumu ile ilişkili duysal ve emosyonel bir deneyimdir ve bireylerin ağrıyı ne düzeyde hissedeceği, bireyin hoşnut olmadığı ağrı uyarısı süreçlerin birbirini etkilemesi sonucudur (14).

Mekanik ve termal uyarılar düşük yoğunlukta zararsız olabilir, hatta hoşa bile gidebilir, ancak yüksek düzeyde olursa hücresel hasara neden olabilirler. Ağrının birincil işlevi lokal bir doku hasarı konusunda SSS'ye haber vermek ve ağrılı uyarandan kaçmak veya geri çekilmek için bir motor refleks başlatmaktır (1,15). Birisi ağrı çektiğini söylüyorsa, zararlı bir uyarıcının belirlenip belirlenemediğine bakılmaksızın, yaşadıkları ağrı olarak kabul edilmelidir (11).

## NOSİSEPSİYON

Genellikle ağrı ve nosisepsiyonun aynı durumu anlattığı zannedilir ancak farklıdırlar. Nosisepsiyon, bedenin bir bölgesinde bir doku hasarı meydana geldiğinde özelleşmiş nosiseptör denen reseptörlerle algılanıp SSS'ye götürülmesi ve belirli nöral yapılarda bütünleştirilerek bu tehlike durumunun algılanması ve bu duruma yönelik gereken fizyolojik, biyolojik, psikolojik vb. önlemlerin harekete geçirilmesidir. Ağrı, duyusal bir uyarının doğrudan ifadesi değildir, beynin çeşitli nöral sinyalleri tarafından ayrıntılı işlemlerin bir ürünüdür. (10,12).

## AĞRININ İLETİM FİZYOLOJİSİ

Ağrılı uyaranlar karmaşık yolaklar üzerinden kontrol için SSS'ye iletilir (11). Ağrının iletimi dört aşamada gerçekleşir:

### Transdüksiyon

Duyusal sinir uçlarındaki zararlı uyarının (noksiyus uyarı) elektriksel aktiviteye dönüşümü aşamasıdır. Bu aşama serbest sinir hücrelerinde lokalize olan nosiseptörler aracılığıyla gerçekleştirilir.

### Transmisyon

İlgili sinir uçlarındaki bilginin SSS'ye iletilmesidir. Bu nöral yolaklar; omuriliğe ulaşan birincil afferent nöronlar, omurilikten beyin sapı ve talamusa çıkan ikinci sıra nöronlar ve talamokortikal projeksiyon nöronları olmak üzere üç kısımdır.

### Modülasyon

Transmisyon iletisinin inici nöral yolaklar vasıtasıyla değiştirilmesidir.

### Persepsiyon

Transdüksiyon, transmisyon ve modülasyon sonucu santrale ulaşan uyarıları kişinin öznel, psikolojik ve duygusal özellikleri vasıtasıyla algılamasıdır. Ağrının algılanması aşamasıdır ve bu aşamada kişisel özellikler oldukça belirleyicidir (1,2).

## AĞRININ SINIFLANDIRILMASI

Ağrı, nörofizyolojik mekanizmalara (nosiseptif, somatik, visseral, nöropatik ağrı), süresine (akut, kronik ağrı), etiyolojik faktörlere (kanser, post-herpetik nevralji, artrit ağrısı) ve ağrı bölgesine (baş, yüz, bel ağrısı, pelvik ağrı) göre dört şekilde sınıflandırılmıştır (16).

### Akut Ağrı

Cerrahi, yaralanmalar ve ani hastalıklarda mekanik, kimyasal, termal uyaranların canlıda oluşturması beklenen tepki olarak adlandırılmıştır (17). İnsanların tutumları, inanışları ve kişilikleri akut ağrı deneyimlerini güçlü şekilde etkilemektedir (18). Akut ağrının bazen bir aydan kısa bazense altı aydan uzun olduğu görülmüştür. Bu durum kronik ağrıyla akut ağrının birbiri arasındaki farkları anlaşılmaz hale getirmiştir (19). Bu nedenle akut ağrı doku harabiyeti ile tetiklenen kalıcı bir nosiseptif ve davranışsal kaskadın başlama evresidir diyebiliriz (20). Otonomik cevapları şiddetlidir (10).

Doku hasarına, hastalığa veya kas ya da visseranın (iç organlar) anormal fonksiyonuna bağlı olarak ağrılı uyaranların oluşturduğu ağrıdır. İki komponente sahiptir:

**Sensoryal diskriminatif:** Ağrılı uyaranın niteliğini ve lokalize edilmesini sağlar. Aα ve Aδ lifleriyle neotalamus ve somatosersoryal kortekse iletir.

**Affektif motivasyonel:** Uyaran yavaş ve miyelinsiz C lifleriyle beyin sapına, orta beyin nükleuslarına ve kortikal limbik sisteme iletilir. Daha uzun sürelidir, davranış ve öğrenilmiş savunmadan sorumludur. Organizma bu şekilde hasarın devamını engeller, iyileşme hızını arttırır. Post-travmatik ağrı, post-operatif ağrı, doğum sancısı ve miyokard infarktüsü (MI) ağrıları buna örnek gösterilebilir. Günler ve haftalar içinde iyileşir eğer iyileşmezse kronikleşir. Kaynağına ve niteliğine göre somatik ve visseral ağrı diye iki bölümde incelenir.

1-Somatik ağrı: Yüzeyel veya derin olabilir. Cilt, cilt altı doku, müköz membranlarda oluşan ağrılı uyaranlar yüzeyeldir, iyi lokalize edilir. Batıcı, yanıcı, zonklayıcı tiptedir. Derin somatik ağrı ise kaslardan, kemiklerden, tendonlar ve eklemlerden gelen künt ve sızlayıcı tipte ağrılardır.

2-Visseral ağrı: İç organların veya zarlarının anormal işlevi veya hastalığına bağlı olarak ortaya çıkar (2). Somatik ağrıya kıyasla, visseral ağrı çok az lokalizedir, çünkü iç organ üzerindeki nosiseptörlerin yoğunluğu daha düşüktür (11).

**Kronik Ağrı**

Akut bir hastalıktan veya iyileşme sürecinden sonra devam eden en az altı hafta sürmesiyle bilinen, psikolojik ve çevresel etmenlerin rol oynadığı ağrı tiplerinden biridir (2). Çoğu kez nosiseptif şekilde başlayıp kronikleşerek devam eder. Akut ağrıdaki kadar otonomik cevaplar yoktur.

**Nöropatik Ağrı**

Somatosensoryal sistemin uyarılmasına bağlı metabolik rahatsızlıklar, periferik travma sonucu oluşur. Farklı bir nörolojik lezyon ile gözüken otonomik disfonksiyon veya motor, sensöryal bölgede dizestezi durumunda kuvvetle akla gelir. Ağrı eşiği düştüğünde normalde ağrılı olmayan bir uyaranı ağrılı şekilde algılama (allodini), uyarıya yanıt hem sürekli hem de amplitüd bakımdan abartılı olabilir (hiperaljezi) (10). Genelde opioidlere pek yanıt vermeyen daha çok antikonvülzan ve antidepresanlar gibi ilaçlara yanıt veren bir ağrı tipidir (2).

**Nosiseptif Ağrı**

Zararlı uyaranlardan etkilenen özgün reseptörler olan nosiseptörlerin aktivasyonuyla veya duyarlılaştırılmasıyla (sensitizasyon) oluşur. Miyelinli Aδ ve miyelinsiz C lifleri ile SSS'ye iletilirler (2). Miyelinli Aδ; kesici, yoğun, batıcı ağrı duyusunu, miyelinsiz C lifleri ise uyarandan sonra oluşan uzun süreli, zonklayan ve yakıcı ağrı uyarısını taşırlar (1,10,15). Bu lifler non-steroidal antiinflamatuvar ilaçlara (NSAİİ) ve opioidlere yanıt verirler (2,10,15).

Mekanik, termal, kimyasal, polimodal nosiseptörler yanında hala gizemini koruyan sessiz nosiseptörler de vardır.

**Mekanik nosiseptörler:** Yoğun basınç ya da derinin mekanik deformasyonu (kesici, delici vb. cisim) sonucu uyarılırlar. Eşik değerleri yüksektir. Uyaran zararlı olmaya başlarsa cevap verirler (10,12,15). İnce, miyelinli Aδ sinirleriyle iletilirler. Bir çekiç ile parmağımıza vurduğumuzda başlangıçta kısa süreli, hızlı ve keskin bir ağrı

(birincil ağrı) daha sonra uzun süreli sızlama ve yanma şeklinde bir ağrı (ikincil ağrı) hissederiz. Birincil ağrı, termal ve mekanik reseptörler ile algılanıp Aδ sinirleri ile iletilir. İkincil ağrı ise polimodal reseptörler aracılığı ile C sinirleri tarafından iletilir.

Zararsız mekanik uyarılar deride özelleşmiş yapılarla algılanarak miyelinli Aβ sinirleriyle iletilirler (12). Bu yapılar; dokunma ve deriye hafif baskıları algılayan Merkel hücreleri, deri üzerindeki hafif cisimlerin hareketine duyarlı Meissner hücreleri ve derideki gerilme ve eklem rotasyonunu algılayan Ruffini cisimcikleridir (21).

**Termal nosiseptörler:** Aşırı uçlardaki ısılarda genellikle 45°C üstündeki veya 5°C altındaki sıcaklıklarda aktive olurlar. İnce, miyelinli Aδ sinirleriyle 5-30 m/s iletim hızıyla iletilirler.

**Kimyasal nosiseptörler:** Nosiseptif lifler serbest sinir uçlarıdır. Hasara uğrayan dokulardan kimyasal mediyatörler salınır ve bunlar genelde histamin, prostaglandin, bradikinin, P maddesi, lökotrien, serotonin (5-HT), sitokinler ve asetilkolindir (10,15,21,22).

Zararlı uyaran hücre geçirgenliğini bozarak bradikinin öncülleri açığa çıkartır. Bunlar zincirleme reaksiyonlarla bradikinine dönüşür. Bradikinin nosiseptörleri aktive eder ve çevre damarlarda vazodilatasyon yapar. Bradikinin aynı zamanda hücre zarlarına (fosfolipidlere) da etki eder, prostaglandin ve lökotrien salınımını başlatır. Trombositler serotonin salar, bunlar direkt olarak nosiseptörleri uyarır ve çevre hücrelerden prostaglandin ve lökotrien salınımını arttırır. Hücre yıkımı ile iyonlar dışarı çıkar ve nosiseptörler yine uyarılır. Anahtar madde araşidonik asittir. Siklooksijenaz enzimi ile siklik endoperoksitleri oradan da prostaglandinleri oluşturur.

Akson refleksi mekanizması ile duyarlı hale gelen nosiseptör uçlarından nöropeptidler (P maddesi, nörokinin-A, kalsitonin gen ilişkili peptidler (CGRP) vb. taşikininler) salınarak ödem ve yangı oluştururlar (10,23).

**Polimodal nosiseptörler:** Kuvvetli mekanik, kimyasal ve termal uyarılara yanıt verebilen nosiseptörlerdir (10,15,21,22). İnce miyelinsiz C sinirleriyle 1 m/sn'den daha az hızda iletilirler.

**Sessiz nosiseptörler:** Vissera'da keşfedilmişlerdir. Zararlı uyaranla normal şekilde aktive edilmezler. İnflamasyonla ve çeşitli kimyasal ajanlarla aktive olurlar. Aktivasyonlarıyla ikincil hiperaljezi ve santral duyarlılık sendromu ortaya çıkar.

Bu nosiseptörler deride ve dokularda geniş bir yayılım gösterir. Sıklıkla eş zamanlı olarak aktive olurlar. Nosiseptif uyarı primer afferent iletim ile dorsal boynuza oradan çıkıcı sistemle SSS'ye taşınır (12).

## PRİMER AFFERENT İLETİM

Deride iletim hızlarına, algılama türü seçiciliğine göre üç farklı duyusal sinir lifi bulunur. Bunlar Aβ (hızlı iletim, miyelinli), Aδ (yavaş iletim, miyelinli), C (yavaş iletim, miyelinsiz) (14,22). Aβ, derideki zararsız uyaranlara yanıt verirken diğer iki duyusal lif zararlı uyarılara (mekanik, termal, kimyasal) yanıt verir (24). Bu lifler omurilik arka boynuzda sonlanırlar.

Zararlı uyarı afferent sinir uçlarını depolarize ederek SSS'ye yayılan bir aksiyon potansiyeli oluşturur. Nosiseptör membranındaki termal, mekanik ve kimyasal uyarıları algılayan yapılar bu uyarıları elekriksel potansiyele çevirirler. Bu konuda en bilindik protein yapılar geçici reseptör potansiyeli sınıfı olan TRP (transient receptor potential) reseptörleridir (12,15). Zararlı uyaranları tespit eden önemli TRP reseptörleri TRPV1–4, TRPM8 ve TRPA1'dir (11). TRPV1 selektif olarak nosiseptif nöronlarda eksprese edilir. Acı biberde bulunan kapsaisin'le ve diğer kimyasal yakıcı maddelerle oluşan ağrıyı düzenler. Ayrıca zararlı termal uyaranlarla ve düşük pH ile de aktive olurlar. TRPV2 ağırlıklı olarak Aδ sinir uçlarında eksprese edilir ve yüksek sıcaklıklarda aktive olur. TRPM8 kanalı ise düşük sıcaklıklarda ve mentol gibi kimyasallarla aktive olur (12,15,25).

Periferde nosiseptif sinir uçlarında selektif olarak eksprese edilen diğer bir reseptör de tetradoksine dirençli $Na^+$ kanallarıdır. Özellikle $Na_V1.7$ olarak adlandırılan kanal insanda ağrı algısında anahtar role sahiptir. Bu kanal SCN9A (sodium voltage-gated channel alpha subunit 9) geniyle kodlanmıştır. Bu gendeki nadir görülen mutasyonlar sonucu ağrıya duyarsızlık ortaya çıkmaktadır. Birinci sınıf mutasyonda ağrıya duyarsızlık oluşurken ikinci sınıf mutasyonda kanalın inaktivasyon kinetiği değişerek kişilerde rektal, oküler ve submandibular ağrı ile karakterize paroksismal şiddetli ağrı hastalığı ortaya çıkmaktadır.

Nosiseptörler iyonotropik purinerjik reseptörleri ($PTX_3$) de eksprese ederler. Bu reseptörler doku hasarından sonra salınan ATP ile aktive olur.

Zararlı uyarıları algılayan nosiseptif nöronlar yalancı tek kutuplu nöronal tiptedir. Hücre gövdeleri arka kök gangliyonlarında ve trigeminal gangliyonlarda yerleşmiştir. Bu nöronların ana dalları omurilikte sonlanır ve çoğu sonlanım arka boynuzdadır (12).

**ARKA BOYNUZ**

Primer afferent nöronlar, omurilik arka boynuzunda nosiseptif uyarıları farklı düzenleme özellikleri olan farklı laminalarda (Rexed laminaları) sonlanırlar. Aδ ve C lifleri dorsal köke girince ikiye ayrılırlar birkaç segment aşağı yukarı hareket ederek Lissauer traktusu'nun bir kesimini oluştururlar. Santral terminalleri lamina-I (marginal zonu) ve lamina-II (substantia gelatinosa, SG) nöronlarıyla sinaps yapar. Bazı Aδ sinir uçları daha derinde lamina-V nöronlarına ulaşır. Aβ lifleri ise lamina-IV'de sonlanır ancak bu katmandaki nöronların dendritleri II-III-V katmanlarına da yayılır.

Çoğu nöron en yüzeyde bulunan lamina-I'dedir. Buraya Aδ ve C lifleri ile zararlı uyarı iletilir. Bu nöronlar uyarıları daha yüksek noktalara özellikle talamusa iletir. Diğer lamina-I nöronları da zararsız mekanik uyarıların iletilmesinde görevlidir.

Lamina-II (SG) yoğun bir katmandır, eksitatör ve inhibitör ara nöronlardan oluşur. İnhibitör ara nöronlar genellikle enkefalinerjiktir. Enkefalin pentapeptidler salarak, opioid reseptörler aracılığı ile hem presinaptik inhibisyon (nörotransmitter salıverilmesinde azalma) ve hem de postsinaptik inhibisyon yaparak birinci sıra ağrı nöronlarının ikinci sırayı uyarmasını baskılarlar. Supraspinal inici yolaklar tarafından aktive edilirler. Bu ara nöronlar zararlı ve zararsız uyarıları iletmekle görevlidir (12,26).

Lamina-III ve IV, lokal ara nöronlar ve supraspinal projeksiyon nöronlarının karışımı şeklindedir. Bu nöronların çoğu Aβ lifleriyle gelen zararsız uyarıları iletir.

Lamina V, çeşitli zararlı uyarıları beyin sapı ve talamusa iletir. Buradaki nöronların dendritleri lamina-II'ye kadar uzanmakta olduğu için Aβ, Aδ ve C sinirleriyle uyarılır. Visseral ve somatik sinir lifleri bu katmanda birbirlerine çok yakın olduğu için ağrı yansımaları yaparlar. Miyokard infarktüsünün sol kolda ve göğüste ağrı oluşturması buna bir örnektir.

Lamina VI, kas ve eklemlerin oluşturduğu uyarının geniş çaplı sinir lifleriyle getirildiği bölgedir. Zararsız uyarıları iletir ancak nosiseptif uyarının iletimine katkı yapmaz.

Lamina VII ve VIII omuriliğin ön ve orta bölümlerinde bulunur. Zararlı uyarıları iletirler.

Dorsal boynuzda bulunan üç grup nöronlar; projeksiyon nöronları, lokal eksitatör ara nöronlar ve inhibitör ara nöronlar'dır.

Projeksiyon nöronları, uyarılınca anterolateral afferent sisteme geçerek üst merkezlerde algılanır.

Lokal eksitatör ara nöronlar, duyusal ve ağrılı nöronları projeksiyon nöronlarına iletir ve onların uyarılmasını sağlar. Genelde Aδ ve C liflerinden gelen uyarıları projeksiyon nöronlarına iletmekle görevlidir.

İnhibitör ara nöronlar, nosiseptif sinyalleri iletmezler ve daha yüksek merkezlere impulsları iletirler. Genellikle geniş çaplı Aβ lifleriyle uyarılırlar. Geniş çaplı liflerle uyarıldıklarında projeksiyon nöronlarında inhibisyon meydana getirirler (10,12,14).

Ağrılı sinyalleri iletmede başlıca iki tip nörotransmitter vardır. Bunların biri glutamat diğeri nöropeptidler'dir.

Glutamat, Aδ sinir uçlarından ve motor nöronlara sinaps yapan birincil afferentlerden salgılanan eksitatör bir amino asittir. Ligand kapılı $Na^+/K^+$ iyon kanallarını uyararak kısa süreli, NMDA (N-metil-D-aspartat) reseptörlerini uyararak uzun süreli depolarizasyon yapabilir.

Nöropeptidler (kolesistokinin, CGRP, P maddesi, nörokinin-A vb.) projeksiyon nöronlarında uzun ve kısa süreli uyarımlara yol açabilir. C liflerinden salınan nöropeptidler omuriliğe ağrı olayını ve sürdürülmesini bildirirken, periferdeki C liflerinden salınanlar dokunun bütünlüğünü ve savunmasını korumaya yönelik hareket eder (2,10,12,14).

Spinotalamik, spinoretiküler, spinomezensefalik, servikotalamik ve spinohipotalamik yolaklar ile arka boynuzdan çıkan nosisepsiyon uyarısı üst merkezlere iletilir.

## NOSİSEPTİF ÇIKICI SİSTEMLER

Spinotalamik yolak, omurilikteki en belirgin çıkıcı nosiseptif yolaktır. Arka boynuzun lamina I, V, VII nöronlarından köken alarak karşı taraf anterolateral beyaz cevherden geçerek talamusun ventralposterolateral (VPL) çekirdek bölgesinde sonlanır. Bu yolaktan geçen elektriksel uyarı ağrının algılanması için yeterlidir ve ağrılı impulsları en hızlı ileten liflerdir (12,27).

Spinoretiküler yolak, lamina VII ve VIII'deki projeksiyon nöronlarının aksonlarını içerir. Bu yolak omuriliğin karşı taraf anterolateral kadranında yükselir hem retiküler oluşumlarda hem de talamusta sona erer. Korteksi ve subkortikal yapıları uyanık tutmak, zararlı bir uyarana karşı genel bir alarm hali yaratmakla görevlidir.

Spinomezensefalik yolak (spinoparabraşiyal yolak), dorsal boynuz lamina I ve V'teki nosiseptif projeksiyon nöronlarının aksonlarını içerir. Spinoretiküler yolağa çok yakın şekilde mezensefalik periakuedüktal gri cevhere (PAG) kadar yükselir. Buradaki aksonlar parabraşiyal çekirdeğe kadar uzanırlar. Parabraşiyal çekirdek nöronları da amigdala'ya kadar uzanır. Duyusal bölgeleri düzenleyen anahtar rolündeki çekirdektir. Burada enkefalinerjik nöronlar vardır ve burası antinosiseptif mekanizmaların tetiklendiği en önemli bölgelerden biridir (2,10,12,26).

Servikotalamik yolak, omuriliğin iki üst servikal segmentinin lateral beyaz cevherinde ilerler. Lateral servikal çekirdek nöronlarının aksonlarını içerir ve bu aksonlar arka boynuz lamina III ve V'teki nöronlardan gelen uyarıları iletir. Servikotalamik yolaktaki çoğu akson beyin sapına ve talamus'a çıkar.

Spinohipotalamik yolakta, arka boynuz lamina I, V ve VIII nöronlarının aksonları bulunur. Bu aksonlar hipotalamik çekirdeğe uyarı iletir, böylece ağrının otonomik yansımaları (nöroendokrin ve kardiyovasküler düzenlemeler) görülür (12).

## BEYİN

Talamus somatosensoryal bilgilerin işlendiği anahtar bölgedir. VPL ve medial dorsal, ventrokaudal kısım çekirdekleri görev alır (14). Net olarak ağrı algılanması hala anlaşılmış değildir (10).

## ANTİNOSİSEPTİF İNİCİ SİSTEMLER

Antinosiseptif inici sistemler ağrının düzenlenmesinde oldukça önemli bir yer tutarlar. Noradrenalin (NA), 5-HT (11,28) ve endojen opioidler (β-endorfin, dinorfin vb.) (28) bu yolakta anahtar görevdedirler. İnici yolakların aktivasyonu sadece birincil afferentlerden ya da ara nöronlardan glutamat salımını modifiye etmez, GABA (gama aminobütirik asit) ve glisin salınımını da etkiler. Ek olarak, nosiseptif bilginin projeksiyon nöronlarından daha yukarı ağrı merkezlerine çıkışını da önemli ölçüde değiştirir. Sonuç olarak ağrı algılanmasının şiddetini önemli ölçüde azaltır (2,10,28).

Beyin sapının dilim şekilde incelenmesi ile yapılan araştırmada NA ve 5-HT içeren çekirdeklerin nöronlarının güçlü olarak aktif olduklarını göstermişlerdir (29). Böylece glutamat, GABA ve glisin salınımını ve arka kökteki nöronların uyarılmasını dinamik olarak kontrol eder.

İnici inhibitör sistemin hızlandırılıp güçlendirilebileceği muhtemel gözükmektedir. Askerlerin savaş sırasında ağır yaralandığı ancak ağrı şikayetinde bulunmadıkları, savaş ortamından ayrıldıktan sonra ağrı yakınmalarının başladığı bilinen bir örnek olarak gösterilebilir (12,29).

Benzeri endojen analjezik maddelerin oluştuğu bölgeleri belirlemek için birçok araştırma yapılmış ve bazı bölgelerin antinosiseptif etkiden sorumlu olduğu tespit edilmiştir. Bunlar, serebral korteks (*anterior cingulat*, frontal ve paryetal loblar), hipotalamus, PAG, parabraşiyal nükleus, *nukleus traktus solitarius*, rostral ventromedial medulla (RVM) ve noradrenerjik A5, A6 (*locus coeruleus*), A7 (subcoeruleus)'dur (28). Bu çekirdekler arasında; A5, A6, A7 (30,31) ve RVM (32,33) sistemi aksonları dorsolateral fonikül yoluyla omuriliğe iner. Buradaki ağrıyı inhibe eden mekanizmalar in vivo ortamda araştırılmıştır (34,35).

Nosiseptif duyumsama parabraşiyal ve PAG (36) gibi supraspinal seviyelerde modifiye ediliyor olsa da omuriliğe inen engelleyici inhibitör sistemlerin omurilik düzeyinde ağrı uyarısının seçici modülasyonunda kritik bir rol oynadığı düşünülmektedir. Bu varsayım zararlı veya zararsız uyaranların spesifik afferent lifler tarafından yüzeyel ve derin arka boynuzda farklı katmanlara iletilmesinden kaynaklanmaktadır (37). Bu nedenle diğer akışları etkilemeden zararlı uyarıların seçici olarak modifikasyonunun spinal seviyede daha kolay uygulanabileceğini varsayabiliriz. Bazı kanıtlar arka boynuzun (Lamina II) SG nöronlarının periferden santrale iletim modülasyonunda önemli rol oynadığını göstermiştir (37-39).

SG nöronlarının intraselüler araştırmalarında, birincil afferent uyarının SG nöronlarının çoğunda monosinaptik eksitatör post-sinaptik potansiyelleri (EPSP'ler) ve inhibitör post-sinaptik potansiyelleri (IPSP'ler) uyandırdığını göstermiştir (40). Ek olarak, "patch-clamp" çalışmaları SG nöronlarının çoğunun zararlı uyaranlarla uyarıldığı gerçeğini ortaya koymuştur (36).

## SEROTONİN (5-HT) VE SEROTONİN RESEPTÖRLERİ

Kimyasal adı 5-hidroksitriptamin'dir. Besinlerle alınan triptofan aminoasidinden sentezlenir. Büyük kısmı (%95) enterokromafin hücrelerde yani mide-barsak mukozasında geri kalanı trombositlerde ve serotonerjik nöronlardadır (7,9,26).

Serotonin geniş bir dağılım göstererek SSS'de, otonomik gangliyonlarda, post-gangliyonik sinir uçlarında, birincil duyusal nöronlarda, kalp dokusunda, düz kaslarda bulunur (41). Serotonin, NA ile birlikte, supraspinal-beyin bölgelerinden omurilik arka boynuza inen endojen ağrı inhibisyonunda yer alan iki ana nörotransmitterdir (42).

Serotonin reseptörleri 7 ana grupta toplanmış olup, çok sayıda alt tipi bulunmaktadır. Bunlar 5-$HT_1$ (5-$HT_{1A/1B/1D/1E/1F}$), 5-$HT_2$ (5-$HT_{2A/2B/2C}$), 5-$HT_3$ (5-$HT_{3A/3B/3C}$), 5-$HT_4$, 5-$HT_5$ (5-$HT_{5A/5B}$), 5-$HT_6$ ve 5-$HT_7$'dir (40,41). 5-$HT_5$ dışındakilerin nosisepsiyondaki rolü çokça araştırılmıştır (7,43). Tablo 1'de bazı serotonin reseptörlerinin organizmada dağılımı gösterilmiştir.

Serotoninin periferik dokularda ve sinir sisteminde inflamasyon, alerji, vasküler kan akışı, gastrointestinal motilite, otonomik aktivite, stres, depresyon, ruh hali ve iştah dahil olmak üzere çeşitli fizyolojik veya davranışsal işlevlerde yer aldığı öne sürülmüştür (42).

5-$HT_3$ reseptörü; nikotinik reseptörler, $GABA_A$, glisin ve glutamat NMDA reseptörleri gibi iyon kanalının intrinsik kısmını oluşturur (26). Karakterize edilmeyen bu tip adenilil siklazı negatif olarak etkileyen G proteini kenetli reseptör (GPCR) ailesindendir. İşlevi hücre içi $Ca^{2+}$ mobilize etmek ve $K^+$ kanalını aktive etmektir. Formalin ile nosiseptif uyarı yaratılan farelerde 5-$HT_{5A}$ reseptörlerinin antinosisepsiyon sağladığı görülmüştür (7).

**Tablo 1. Bazı serotonin reseptörlerinin organizmada dağılımı** (44)

| Reseptör alt tipi | Dağılım |
|---|---|
| 5-$HT_{1A}$ | Rafe çekirdekleri, hipokampüs |
| 5-$HT_{1B}$ | Substantia nigra, globus pallidus, bazal gangliyonlar |
| 5-$HT_{1D}$ | Beyin |
| 5-$HT_{1E}$ | Korteks, putamen |
| 5-$HT_{1F}$ | Korteks, hipokampüs |
| 5-$HT_{1P}$ | Enterik sinir sistemi |
| 5-$HT_{2A}$ | Trombositler, düz kas, serebral korteks |
| 5-$HT_{2B}$ | Mide fundusu |
| 5-$HT_{2C}$ | Koroid, hipokampüs, substantia nigra |
| 5-$HT_{3}$ | Area postrema, duyusal ve enterik sinirler |
| 5-$HT_{4}$ | SSS ve miyenterik sinirler, düz kas |
| 5-$HT_{5A/5B}$ | Beyin |
| 5-$HT_{6/7}$ | Beyin |

Önceki yıllarda yapılan çalışmalar ventrolateral orbital (VLO) korteksin endojen analjezik sistemin bir parçası olduğu göstermişti. Güncel çalışmalarda ise VLO'daki serotonin reseptör alt-tipleri sıçanlarda sinir hasarı ile oluşturulmuş allodinide güçlü bir şekilde modülasyon sağlamasa bile VLO'ya 5-HT enjeksiyonu ile allodiniyi baskılayıcı etkiye katıldıkları gösterilmiştir (6).

Serotonin direkt etkisiyle iskelet kasları hariç diğer damarları büzer (5-$HT_1$ ve/veya 5-$HT_2$ yoluyla). Dimetoksiiyodofenilaminopropan, 5-$HT_2$ reseptörünü seçici olarak etkileyerek damarları büzer. Ergot alkaloidleri 5-$HT_1$ ile vazokonstriktör etki gösterir. Sumatriptan ise 5-$HT_{1B/D}$'yi aktive ederek damar büzer. Koroner arterlere serotonin vermek düşük dozda dilatasyon, yüksek dozda konstrüksiyon yapar. Ayrıca migren tedavisinde agonistlerinin yeri vardır (26,44).

Solunumu 5-$HT_3$ reseptörü ile stimüle eder. İnce barsak düz kaslarında önce spazm sonra peristaltizm artışı sağlar.

Sisplatin gibi antikanser ilaçların emezis yapması mide-barsak mukozasındaki enterokromafin hücrelerinden serotonin salınmasından ve serotoninin area

postremada kemoreseptör trigger zon'u (KTZ) etkilemesinden kaynaklıdır. Ondansetron, granisetron gibi 5-$HT_3$ reseptör blokörü ilaçlar bu tür emezisin tedavisinde kullanılır.

Sempatik gangliyonları 5-$HT_{2A}$ ve 5-$HT_3$ ile stimüle eder, intravenöz (i.v.) verilince ciltte iğnelenme oluşturur (26).

## OPİOİDLER VE RESEPTÖRLERİ

Opioidler, SSS'de görev yapan endojen mediyatörler olan endojen opioidlerin reseptörlerini etkilediği ve etkilerini taklit ettiği agonistlerdir. Tıbben en önemli etkileri omurilik ve beyinde ağrılı impulsu bloke etmeleridir.

Dört temel endojen opioid grubu bulunmaktadır: proopiyomelanokortin (POMK) sistemi, pro-enkefalin sistemi, prodinorfin sistemi ve nosiseptin/orfanin FQ sistemi (26,27,45).

### POMK Sistemi

POMK adlı öncülün yıkılmasıyla β-endorfin oluşur. Beyinde hipotalamusun *nucleus arcutaus* ve çevresinde, medullada *n. tractus solitarii*'deki bazı nöronlarda bulunur. β-endorfin salan nöronlar diğer sistemlere göre kısıtlı yerleşim gösterirler. Reseptör olarak μ (mü)'ye yüksek afinitelidirler. β-endorfin'den sonra μ reseptörüne yüksek afinite ve selektivite gösteren grup endomorfinlerdir ancak henüz detaylı olarak bilinmemektedirler (44,45).

### Pro-enkefalin Sistemi

Met-enkefalin, lö-enkefalin bir molpro-enkefalin'in parçalanmasıyla oluşmuşlardır. Beyinde ve omurilikte yaygın dağılım gösterirler. $\mu_1$ ve δ (delta) reseptörlere yüksek ilgi gösterirler. Adrenal medulladan bazı stres türlerinde salınan enkefalinler ile ön hipofizden salınan β-endorfinlerin stres analjezisinde rol oynadıkları deney hayvanlarında kanıtlanmıştır (27,45).

### Prodinorfin Sistemi

Dinorfin A, dinorfin B, α ve β neoendorfinler bu prekürsörden oluşmuşlardır. Kappa (κ) reseptörlerine yüksek ilgi gösterirler. Deney hayvanlarının beynine

uygulandıklarında anti-analjezi gösterirken intratekal (i.t.) uygulandıklarında güçlü analjezi yaparlar (27,44,45).

**Nosiseptin/Orfanin FQ Sistemi**

Nosiseptin/orfanin FQ sistemi 90'lı yıllarda bulunmuş yeni bir opioid sistemidir. Beyinde hipokampüste, kortekste ve duyusal nöronlarla alakalı kısımlarda bulunurlar. Tam olarak fonksiyonları belirlenememiştir ancak diğer sistemlerden farklı olarak uygulandıkları bölgeye göre analjezi veya hiperaljezi yapabilirler (45,46).

**Opioid Reseptörleri**

μ, δ, κ ve nosiseptin/orfanin FQ reseptörleri (NOP) olmak üzere dört sınıftır (9,26,44,45).

**μ Reseptörleri:** β-endorfin ve morfin'in yüksek ilgiyle bağlandığı reseptörlerdir. Selektif agonistleri morfin, metadon, fentanil (3), sulfentanil, DAMGO ([D-Ala$^2$, *N*-MePhe$^4$, Gly-ol]-enkephalin) ve dermorfindir. Selektif antagonisti CTOP (D-Phe-Cys-Tyr-D-Trp-Orn-Thr-Pen-Thr-$NH_2$)'dir.

$\mu_1$ ve $\mu_2$ olmak üzere iki alt tipi vardır. $\mu_1$; PAG, nükleus rafe magnus (NRM), medial talamus ve *locus coeruleus* gibi supraspinal analjezide rol oynayan yapı nöronlarında bulunur. Görece selektif agonistleri meptazinol ve morfiseptin, selektif geri-dönüşsüz antagonistleri ise naloksonazin ve β-funaltreksamindir. $\mu_2$ analjezide rol oynamaz opioidlerin solunum ve barsaktaki etkilerini oluşturur.

Aktivasyonları adenilil siklazın inhibisyonu, voltaja bağlı $Ca^{2+}$ kanallarının inhibisyonu ve içeriye dönük $K^+$ kanallarını açmak suretiyle gerçekleşir; bu şekilde inhibisyon oluşturur (9,45,47).

**δ Reseptörleri:** Enkefalinlere selektiftir. Heyecan, duygudurum ve kognitif fonksiyonların düzenlenmesinde rolü olan limbik sistemde yoğun olarak bulunur. Selektif agonistleri sentetik DPDPE ([D-Phe$^2$, D-Phe$^5$]-enkefalin), DSLET (2-Ser-Thr-Leu-enkefalin) ve metkefamid; selektif antagonisti ise naltrindol'dur. κ reseptörler ile spinal düzeyde analjezide rol oynarlar. μ reseptörleriyle aynı aktivasyona sahiptirler.

**κ Reseptörleri:** Serebral korteksin derin nöronlarında, arka boynuzun birinci sıra nöronlarında δ reseptörleri ile birlikte ve limbik sistem, talamus ve striatum gibi yerlerde lokalizelerdir. Serebral kortekste morfin ve benzeri opiyatların yarattığı sedasyonda ve omurilikte spinal analjezide rol alırlar (45).

Selektif agonistleri dinorfin A ve β-neo-endorfinler, spiradolin gibi sentetik opiyatlardır. Nor-binaltorfimin selektif antagonisttir. Bu agonistler beyne lokal uygulandıklarında zayıf analjezi, spinal uygulandıklarında güçlü analjezi oluşturur. Benzomorfan ise bu reseptörlere görece selektif bir agonisttir. (14,44,45).

**Nosiseptin/orfanin FQ reseptörleri (NOP):** Diğer üç reseptörle fazla benzerlik gösterir ancak onların ligandları NOP reseptörlerine karşı az ilgi gösterirler ya da hiç ilgi göstermezler (44,45).

Sıçanlarda akut ve kronik morfin uygulamaları beyindeki NOP seviyelerini arttırdığı görülmüş ve bu durumun morfin toleransında rol oynayacağını düşündürmüştür, NOP reseptör antagonisti verilince de morfine tolerans gelişiminin önlendiği görülmüştür (48). Bu gelişme kannabinoid toleransını da önleyebilir miyiz sorusunu sormaya yöneltmiş ve başka bir çalışmada NOP reseptör antagonisti JTC-801 kullanılarak bir kannabinoid agonisti olan WIN 55,212-2'nin hayvanda geliştirdiği toleransı azalttığı tespit edilmiştir (46).

**Opiodlerin Bazı Fizyolojik İşlevleri**

Opioid reseptörleri arka boynuzda ve SG'de yoğun bir şekilde lokalizelerdir ve buradaki nosiseptif uyarıyı baskılayarak işlevlerini gösterirler. Afferent sinirlerin periferik uçlarında bu uçlardan P maddesi ve benzeri peptidlerin salınmasını inhibe eden opioid reseptörler bulunmaktadır.

PAG ve arka boynuzda opioid peptidlerle kolesistokinin (CCK) arasında etkileşim vardır. Morfin, omurilikte CCK salımını arttırır, CCK anti-opioid etki yapar. CCK antagonistleri morfin'in analjezik etkisini arttırır. Bu durum morfine karşı toleransı oluşturur bu yüzden morfinle birlikte CCK antagonistleri bu toleransı kısmen engeller (45).

Mezensefalonda enkefalinlerden zengin nöronlar esas olarak PAG ve çevresindeki rafe nükleusları'nda lokalizelerdir. Bu supraspinal düzeydeki ağrı uyarısının baskılanmasında rol oynar (14,44,45).

μ reseptör agonistleri ve kannabinoid reseptör agonistleri, örneğin $\Delta^9$-tetrahidrokannabinol ($\Delta^9$-THC) antinosisepsiyon ve diğer birçok farmakolojik etkileri ortak gösterirler. Kannabinoid reseptör agonistleri artarak ağrı tedavisinde araştırılmaya devam etmektedir (49).

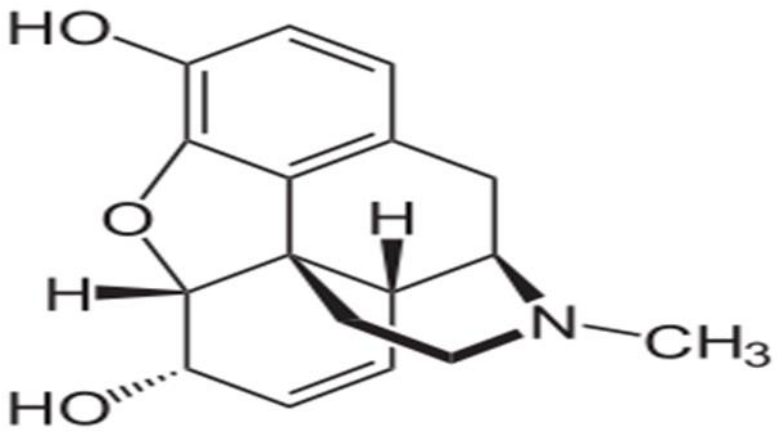
**MORFİN**

Morfin önceleri afyondan elde edilmiştir, afyonda en fazla bulunan alkaloiddir. Hidroklorür veya sülfat tuzu şeklinde kullanılır (Şekil 1). Narkotik analjezikler içinde en ucuz olanıdır.

Genelde intramüsküler (i.m.) veya cilt altından uygulanır, çabuk ve tam olarak absorbe edilir. Etkisi 20 dk'da başlar 4-6 saat devam eder. İ.v. olarak etkisi 1-2 dk'da başlar ve kısa sürer. Ağızdan alındığında karaciğerde ilk geçiş etkisiyle biyoyararlanımı düşük olur (2,44,45).

Morfin analjezi oluşturan dozlarda beş duyuyu bozmaz. Öfori, sedasyon yapar. Hareketlilikte azalma yapar. Kas koordinasyonunda belirgin bir bozulma yapmaz. Ancak aşırı dozda konvülsiyon yapar. En önemli yan etkisi yüksek dozda solunum depresyonudur. Güçlü antitussif etkisi vardır. Kemoreseptör trigger zon'u stimüle eder bulantı ve kusma yapar. Hipotermi yapar. Periferik olarak μ ve kısmen κ reseptörleri ile gastrointestinal spazmojenik etkiler yapar. Konstipasyon önemli bir yan etkisidir. Histamin açığa çıkaran bir madde olmasından dolayı astımlı hastalarda bronkokonstriksiyon yapar.

Doku zedelenmesi, koliklere bağlı akut ağrılarda, kronik ağrılarda, obstetrik analjezi, akut MI, kanser ağrıları, preanestezik medikasyon, dengeli nörolept anestezi ve analjezide, akut sol kalp yetmezliği, diyare ve şiddetli öksürükte morfin ve diğer opioidler kullanılabilirler (14,44,45).




**Şekil 1**. **Morfin'in kimyasal yapısı, 3,6-dihidroksi-4,5-epoksi-17-metilmorfinan-7-en, $C_{17}H_{19}NO_3$.**

## KANNABİNOİDLER

*Cannabis sativa* var. Indica, yani hint keneviri bitkisinin reçinesinden elde edilmişlerdir. $\Delta^9$Tetrahidrokannabinol (THC) marihuanadaki majör kimyasal maddedir (26,44,50).

Yaklaşık 65 adet fitokannabinoid bu bitkide keşfedilmiştir (51). Kannabigerol (CBG), kannabişromene (CBC), kannabidiol (CBD), $\Delta^9$-THC, $\Delta^8$-THC, kannabisiklol (CBL), kannabiyelsoyin (CBE), kannabinol (CBN), kannabinodiyol (CBDL) ve kannabitriyol (CBTL) tipleri ve alt tipleri vardır (52).

CBD psikotrop olmayan bir kannabinoid olup, etkilerini kannabinoid reseptörlerini etkilemeksizin ortaya çıkarır (51).

Yüzyıllardan beri analjezik, antibakteriyel, antimigren ve antiinflamatuvar etkileriyle kullanılagelmiştir (50).

THC alkol gibi lipofilik bir maddedir ve psikotrop etkilerinin bu yüzden yıllarca nöron membranına yaptığı etkilerden (membran geçirgenliği ve akışkanlığı üzerine) kaynaklandığı sanılmaktaydı. 1988'den itibaren bunun böyle olmadığı nöron membranı üzerine yerleşmiş özel yüksek afiniteli bir reseptör aracılığılıyla bu etkileri sağladığı saptanmıştır (45).

Marihuana bitkisinde doğal olarak var olan fitokannabinoidler, sentetik olarak üretilen kannabinoidler ve endojen kannabinoidlerin hepsi kannabinoidler grubu içerisindedir (53,54). Yüzyıllardır analjezik ve öforizan etki elde etmek için kullanılan bu grup ağrı yönetiminde önemlidir. Son yıllarda kannabinoid reseptörleri üzerine

çokça çalışma yapılmaktadır. THC ve CBD bitkinin önemli bileşenlerinden olup sıklıkla klinik çalışmalarda yer almaktadırlar (52-55).

Endojen kannabinoidler, 2-araşidonil gliserol (2-AG), anandamid (araşidoniletanolamid) ve 2-araşidonil gliseril eter (26,44), dokozatetraeniletanolamid, homo-γ-linoeniletanolamid, virodamin, N-araşidonil-dopamin ve oleamid (45) beyinden izole edilerek tanımlanmıştır (26,44,51). İlk bulunan endokannabinoid domuz beyninden izole edilen anandamid'dir (45).

Dronabinol sentetik THC analoğu olup, klinikte kullanım için FDA (Food and Drug Administration)'dan izin almıştır. Günümüzde A.B.D. ve bazı Avrupa ülkelerinde kullanıma sunulmuştur. Nabilon da bir THC analogudur ve kronik ağrı tedavisinde A.B.D.'de diğer ülkere göre yakın zamanda kullanıma sunulmuştur (44). İki etken madde de kemoterapiye bağlı bulantı ve kusmanın tedavisinde kullanılmaktadır (9, 53).

THC'nin en belirgin özelliği gevşeme ve öforiye neden olmasıdır. Opioidlere benzer olarak ventral tegmental alan (VTA)'daki GABAerjik nöronların presinaptik inhibisyonu ile dopaminerjik nöronların disinhibisyonuna neden olur (26,44).

**Kannabinoid Reseptörleri ve Kannabinoidlerin Etkileri**

90'lı yıllarda beyinde ve periferde en az iki farklı kannabinoid reseptörü olduğu tanımlanmış olup, bunlar $CB_1$ ve $CB_2$ olarak isimlendirilmiştir (45,50,51,53,56,57).

$CB_1$ reseptörünün SSS'de zengin şekilde lokalize olduğu tespit edildikten yıllar sonra periferde de bulunduğu saptanmıştır. $CB_2$ reseptörlerinin ise SSS'de $CB_1$ reseptörlerine oranla daha az bulunduğu, buna karşılık en çok immün hücrelerde olduğu saptanmıştır. İki reseptör de inhibitör G proteinlerine bağlanarak, cAMP (siklik adenozin monofosfat) üretimini inhibe ederek MAP-kinaz (mitojenle aktive olan protein kinaz) kaskadını aktive ederler. $CB_1$ reseptörü $CB_2$'den farklı olarak voltaj kapılı $Ca^{2+}$ kanallarını ve içe doğru $K^+$ iyon kanallarını aktive ederler (50,53,58-60).

$CB_1$ agonist ve antagonistleri, SSS üzerindeki olumsuz etkilerine rağmen obezite kaynaklı kardiometabolik problemler üzerinde çalışılmış, bulgular ümit verici olmuştur. Çok yeni bir çalışma indol-kuinüklidin maddesinin her iki kannabinoid reseptörüne de afiniteli olduğu gösterilmiştir (50,61).

Günümüze gelen araştırmalar THC ve diğer kannabinoidlerin davranışsal ve nörokimyasal etkilerinin (keyif verici etki dahil) $CB_1$ reseptörleri aracılığı ile

oluşturduğunu göstermiştir. $CB_1$ beyinde en çok bazal gangliyonlar, hipokampüs de dahil limbik sistemde bulunur. Serebral korteks ve serebellumda da azımsanamayacak kadar yaygın bulunur. Beyin sapında seyrek oluşu kardiyovasküler sistem ve solunum sisteminin santral kontrolü üzerinde fazla etkisi olmamasını açıklar (26,45).

Genel olarak kannabinoidler, antispastik, analjezik, antiemetik, nöroprotektif ve antiinflamatuvardır (51).

THC, endokannabinoidlere benzer şekilde organizmadaki etkilerini gerçekleştirir. Bu benzerlikten yola çıkılarak yeni kannabinoidler elde edilmiştir. Selektif $CB_1$ agonisti WIN 55,212-2 ve CP55,940 kod adlarıyla en çok incelenen sentetik kannabinoidlerdendir. SR 141716A ise selektif $CB_1$ antagonistidir (45).

Kannabinoidler, kanser ağrıları için iyi bir tedavi aracı olabilirler. Hayvanlarda yapılan çalışmalarda nöropatik ağrı, kanser ağrısı, kapsaisine bağlı inflamasyon ağrısı kannabinoid agonistlerinin etkileriyle azaltılmıştır. Pençesinde tümör olan farelerin pençesine kannabinoid enjeksiyonunun hayvandaki mekanik hiperaljeziyi azalttığı görülmüştür (60).

Dronabinol AIDS/HIV hastalıklarındaki iştahsızlıkta oral yoldan kullanım için A.B.D.'de onay almıştır (62).

Kannabinoid agonistleri ile μ reseptör agonistleri (örneğin morfin) birlikte kullanıldıklarında antinosiseptif etkinin daha güçlü olduğu çok sayıda araştırmada kanıtlanmıştır (4).

# GEREÇ VE YÖNTEMLER

Araştırmamız için Trakya Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu onayı alınmış (TÜHADYEK-2015.01.07) ve bu çalışmamız Trakya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (TÜBAP-2016/44) tarafından desteklenmiştir.

## DENEKLER

Araştırmamızda 20-30 g ağırlığında olan 128 adet erkek Balb/c fare kullanıldı. Hayvanlar her sabah saat 09:00'da tartıldı ve her gün aynı saatte intraperitoneal (i.p.) enjeksiyonları yapıldı (Şekil 2). Gruplarda i.t. enjeksiyon yapılacak farelerin bel bölgesi tıraşı yapıldı (Şekil 3). Her grupta 8 adet fare ile çalışıldı ve toplamda 16 grup oluşturuldu. Ayrıca i.t. enjeksiyonlarda sorun çıkma olasılığı nedeniyle i.t. yapılacak gruplar için 4'er yedek erkek Balb/c fare alındı.

## KULLANILAN İLAÇLAR VE ÇÖZÜCÜLERİ

### İlaçlar ve Çözücüleri

Deneyimizde kullandığımız ilaçlar: (R)-(+)-WIN 55,212-2 mezilat, (Sigma-Aldrich, St. Louis. MO, USA), morfin sülfat 0,02g/mL, (Galen İlaç San ve Tic. A.Ş. İstanbul/Türkiye) ve SB-699551'dir (Sigma-Aldrich, St. Louis. MO, USA). WIN 55,212-2, %20 dimetilsülfoksit (DMSO), %1 etanol, %1 Tween 80, %78 izotonik sodyum klorür içinde çözülerek kullanıldı. Morfin hazır (10 mg/ml) ampül izotonik sodyum klorür ile istenen dozlara seyreltildi. SB-699551 0,5 mg/ml olacak şekilde tartıldı ve 10 µl/fare olacak şekilde i.t. olarak uygulandı.

## İNTRATEKAL İLAÇ UYGULAMASI

İntratekal enjeksiyonlar Hylden ve Wilcox (1980) (63) tarafından tanımlanan metoda göre, 30 gauge ½ inch Hamilton enjektörle lumbal 5.-6. vertebralar arasından (tıraş edilen alan) anestezi işlemi uygulanmadan yapılmıştır.

## ANTİNOSİSEPTİF YANITLARIN ÖLÇÜLMESİ

### Tail Flick

1941 yılında D'Amour ve Smith (64) tarafından bulunmuş bir yöntemdir. Antinosiseptif etkinin ölçülmesinde anabilim dalımızda bulunan "tail flick" cihazı kullanıldı (Şekil 4). Farelerin kuyruk sırtlarına radyan ısı uygulandı ve bu süre zarfında kuyruklarını aniden çektikleri süreler cihaz göstergesinden bakılıp kaydedildi. Kuyruk çekildiğinde uygulanan ısı da otomatik olarak ortadan kalkıyordu. Kuyruklara uygulanan ısı ortalama olarak 2-4 sn sürecek şekildeki şiddete ayarlandı ve kuyruğun zarar görmemesi için "cut-off" değeri 10 sn olarak belirlendi. Enjeksiyon öncesi farelerin bazal ölçümleri alındı daha sonra enjeksiyondan itibaren 30., 60., 90. ve 120. dk'larda farelerin ölçümleri yapıldı.

Antinosiseptif etkinin göstergesi olarak değerlendirilecek olan maksimal olası etki (MOE) yüzdesi şu formüle göre hesaplandı:

%MOE= [(test süresi – kontrol değeri) / (cut-off süresi – kontrol değeri)] x 100

### Hot Plate

Woolfe ve McDonald tarafından 1944 yılında ilk kez tanımlanan yöntem daha sonra Eddy ve Leimbach tarafından geliştirilerek daha sık kullanılmaya başlanmıştır (65,66). Hayvanlar, 55°C pleksiglas tablaya bırakılıp zıpladıkları, arka pençelerini yaladıkları veya çırptıkları zaman cihazdaki süre elle durdurulup ölçülen değer kaydedildi. Doku hasarını önlemek için "cut-off" 25 sn olarak belirlendi ve bu süreden sonra cevap vermeyen hayvanlar tabladan alındı (Şekil 5). Bazal ölçümler enjeksiyon öncesi, diğer ölçümler ise enjeksiyondan sonra 30., 60., 90. ve 120. dk'larda yapıldı.

Antinosiseptif etkinin göstergesi olarak değerlendirilecek olan MOE şu formüle göre hesaplandı:

%MOE= [(test süresi – kontrol değeri) / (cut-off süresi – kontrol değeri)] x 100

## MOTOR KOORDİNASYON FONKSİYONU ÖLÇÜMLERİ

İlaç enjeksiyonlarının deneklerde motor koordinasyon bozukluğu oluşturup oluşturmadığını anlamak için "rotarod" cihazında teste tabi tutulurlar (Şekil 6). Bu cihaz belirli hızlarla dönen silindirlerden, süre takip kronometresinden ve harekete duyarlı kameralardan oluşmaktadır. Daha önce silindirlerden belirli bir süre düşmemeyi öğrenen fareler enjeksiyondan sonra silindirlere çıkarılır ve düşme anında kamerada hareket algılanır ve kronometre durur. Bu şekilde olası motor koordinasyon kaybı yaşayan denekler belirlenir. Çalışmamızda hayvanlar 16 rpm hızında dönen silindirlerde yaklaşık 180 sn tutuldu.

## DENEY DÜZENİ

Grup sayısı 16 ve her grupta 8'er fare olacak şekilde gruplar ayrıldı. Hangi grupla çalışılacaksa bir gün önceden "hot plate", "tail flick" ve "rotarod" bazal ölçümleri alındı. Enjeksiyon için her sabah tartımları yapılarak kaydedildi. İlaçlar enjeksiyonun hemen öncesinde hazırlandı. Enjeksiyonlar her gün aynı saatte yapıldı.

Grup 1 kannabinoid ilacın kontrol grubu olarak belirlendi. Bu gruptaki 8 fareye i.p. olarak sadece kannabinoid reseptör agonisti olan WIN 55,212-2'nin çözücüsü verildi. Bunu takiben 30., 60., 90. ve 120. dk'larda "hot plate", "tail flick" ve "rotarod"ölçümleri yapılarak kaydedildi.

Grup 2-4'e kannabinoid reseptör agonisti WIN 55,212-2 sırasıyla 1, 3 ve 10 mg/kg dozlarında olacak şekilde i.p. olarak verildi. 30., 60., 90. ve 120. dk'larda "hot plate", "tail flick" ve "rotarod" ölçümleri yapılıp kaydedildi.

Grup 5 opioid ilacın kontrol grubu olarak belirlenip opioid reseptör agonisti olan morfin'in çözücüsü i.p. olarak verildi. 30., 60., 90. ve 120. dk'larda "hot plate", "tail flick", "rotarod" ölçümleri yapılıp kaydedildi.

Grup 6-8'e opioid reseptör agonisti morfin i.p. olarak sırasıyla 1, 3 ve 10 mg/kg dozlarında verildi. Enjeksiyonu takiben 30., 60., 90. ve 120. dk'larda "hot plate", "tail flick" ve "rotarod" ölçümleri yapılarak kaydedildi.

Grup 9'a i.t. olarak serotonin 5-$HT_{5A}$ reseptör antagonisti olan SB-699551'in çözücüsü 10 nmol/fare olarak uygulandı. 30., 60., 90. ve 120. dk'larda "hot plate", "tail flick" ve "rotarod" ölçümleri yapılarak kaydedildi.

Grup 10'a i.t. olarak serotonin 5-$HT_{5A}$ reseptör antagonisti SB-699551 10 nmol/fare olarak uygulandı ve yine 30., 60., 90. ve 120. dk'larda "hot plate", "tail flick" ve "rotarod" ölçümleri yapılarak kaydedildi.

Grup 11-13'e 10 nmol/fare SB-699551 i.t. olarak uygulandıktan 10 dk sonra kannabinoid reseptör agonisti WIN 55,212-2 sırasıyla 1, 3 ve 10 mg/kg olacak şekilde i.p. olarak verildi. 30., 60., 90. ve 120. dk'larda "hot plate", "tail flick" ve "rotarod" ölçümleri yapılıp kaydedildi.

Grup 14-16'ya 10 nmol/fare SB-699551 i.t. olarak uygulandıktan 10 dk sonra opioid reseptör agonisti morfin sırasıyla 1, 3 ve 10 mg/kg olacak şekilde i.p. olarak verildi. 30., 60., 90. ve 120. dk'larda "hot plate", "tail flick" ve "rotarod" ölçümleri yapılıp kaydedildi.

Çalışmada oluşturulan grupların özeti tablo 2'de gösterilmiştir.

**Tablo 2. Çalışmada oluşturulan gruplar.**

| **Deney ve kontrol grupları** | | **Grup hayvan adedi** |
|---|---|---|
| **Grup 1** | Kontrol grubu (WIN çözücüsü, i.p.) | 8 |
| **Grup 2** | WIN 55,212-2 (1 mg/kg, i.p.) | 8 |
| **Grup 3** | WIN 55,212-2 (3 mg/kg, i.p.) | 8 |
| **Grup 4** | WIN 55,212-2 (10 mg/kg, i.p.) | 8 |
| **Grup 5** | Kontrol grubu (Morfin çözücüsü-serum fizyolojik (SF), i.p.) | 8 |
| **Grup 6** | Morfin (1 mg/kg, i.p.) | 8 |
| **Grup 7** | Morfin (3 mg/kg, i.p.) | 8 |
| **Grup 8** | Morfin (10 mg/kg, i.p.) | 8 |
| **Grup 9** | Kontrol grubu (SB-699551 çözücüsü 10 nmol/fare, i.t.) | 8 |
| **Grup 10** | SB-699551 10 nmol/fare i.t. | 8 |
| **Grup 11** | SB-699551 10 nmol/fare i.t. + WIN 55,212-2 (1 mg/kg i.p.) | 8 |
| **Grup 12** | SB-699551 10 nmol/fare i.t. + WIN 55,212-2 (3 mg/kg i.p.) | 8 |
| **Grup 13** | SB-699551 10 nmol/fare i.t. + WIN 55,212-2 (10 mg/kg i.p.) | 8 |
| **Grup 14** | SB-699551 10 nmol/fare i.t. + Morfin (1 mg/kg i.p.) | 8 |
| **Grup 15** | SB-699551 10 nmol/fare i.t. + Morfin (3 mg/kg i.p.) | 8 |
| **Grup 16** | SB-699551 10 nmol/fare i.t. + Morfin (10 mg/kg i.p.) | 8 |

**İstatistiksel Analiz**

Benzer tasarımda yapılmış çalışmalardan elde edilen verilerden tahminen;

Grupları ANOVA ile karşılaştırmaları için;

| | |
|---|---|
| Ortalamalar arasında saptanması planlanan en düşük fark | 0,20 |
| Standart sapma | 0,10 |
| Grup sayısı | 4 |
| İstenen Power | 0,80 |
| Alfa | 0,05 |

Değerlerine göre örnek büyüklüğü 7'dir. Deneyler sırasında hayvan kaybı olabileceği için gruplar 8 hayvan olarak planlandı.

16 grup için 128 hayvana gerek duyuldu. ANOVA'da bir kerede en fazla 4 grup karşılaştırılacağı için yukardaki hesaplamada grup sayısı 4 olarak verilmiştir. (Kestirim SigmaStat for Windows Version 3.5 kullanılarak yapıldı.)

Elde edilen yanıtlar bilgisayara aktarılarak, antinosiseptif etki ve bu etkiyi azaltan antagonistin etkilerinin belirlenmesi için tekrarlayan ölçümler için iki yönlü varyans analizi (repeated measures two way ANOVA) ve takiben *Bonferroni t* testi ile istatistiksel değerlendirme yapıldı (GraphPad prism 6 for Windows version 6.05). $P<0,05$ olan değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.



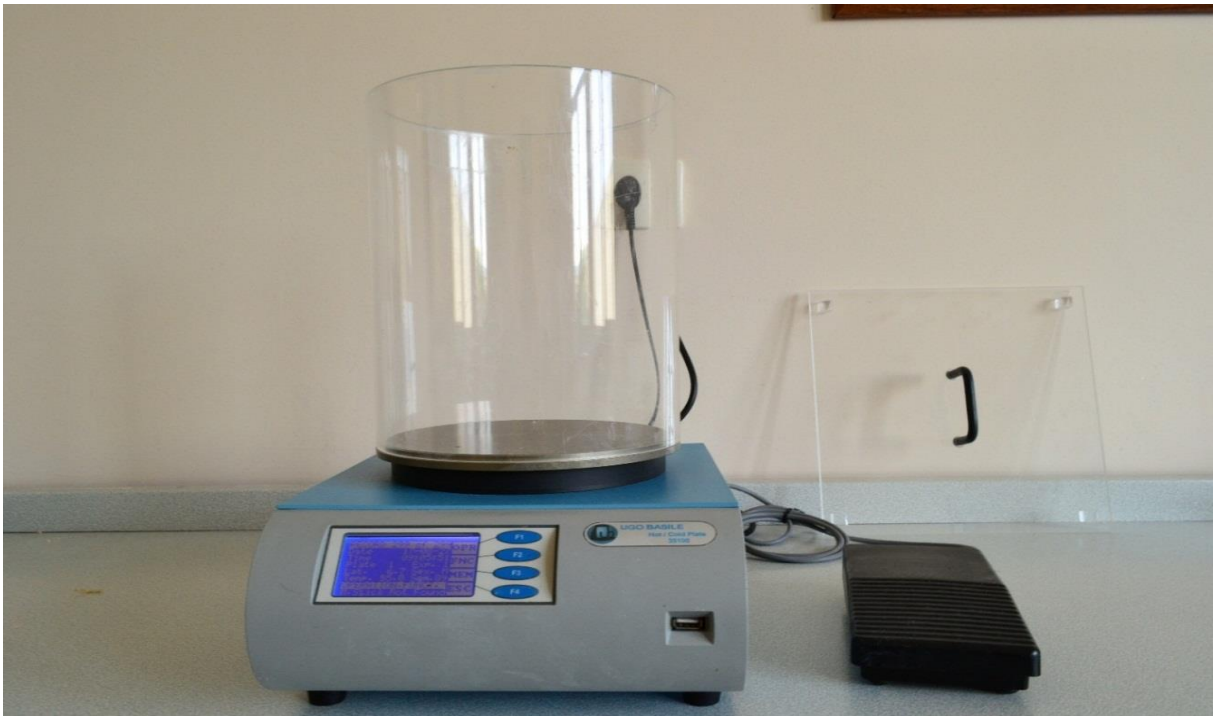
**Şekil 2. İntraperitonal enjeksiyon**



**Şekil 3. İntratekal enjeksiyon**




**Şekil 4. "Tail flick" cihazı**



**Şekil 5. “Hot plate” cihazı**



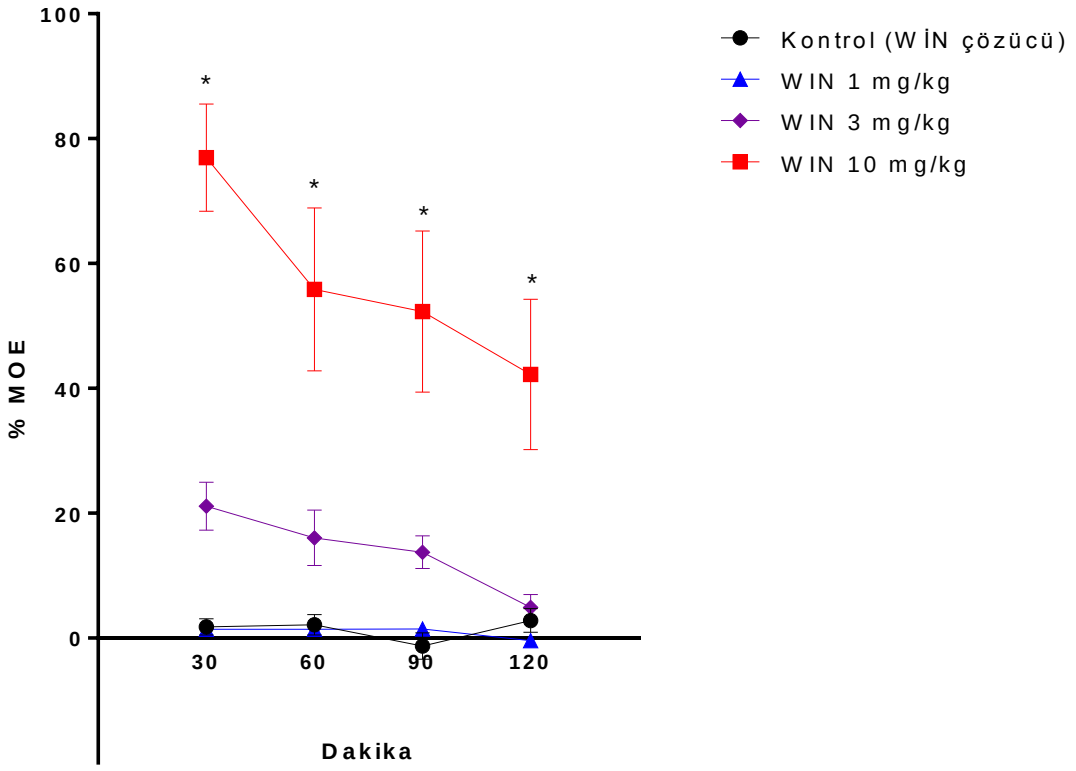

**Şekil 6. “Rotarod” cihazı**

# BULGULAR

Çalışmamızda “hot plate” ve “tail flick” yöntemleriyle farelerde nosiseptif ağrı oluşturuldu. Bu nosiseptif ağrının azaltılması veya inhibe edilmesi 2.,3.,4. gruplara kannabinoid reseptör agonisti WIN 55,212-2 (1, 3, 10 mg/kg, i.p.); 6.,7.,8. gruplara opioid reseptör agonisti morfin (1, 3, 10 mg/kg, i.p.) uygulanarak incelendi. WIN 55,212-2 ve morfin uygulanan gruplarda kontrol grubu olarak çözücüleri (i.p.) kullanıldı (sırasıyla, Grup 1 ve Grup 5). Daha sonraki gruplara agonist uygulanmasından 10 dk önce selektif 5-$HT_{5A}$ reseptör antagonisti SB-699551 i.t. olarak uygulanarak antinosisepsiyonu üzerine etkisi değerlendirildi. SB-699551’in çözücüsünü (Grup 9) ve SB-699551’in kendisini (Grup 10) tek başına i.t. olarak uygulamamız herhangi anlamlı bir etki oluşturmamıştır. Sistemik olarak uyguladığımız agonistlerin oluşturduğu antinosiseptif etkilere spinal 5-$HT_{5A}$ reseptörlerinin aracılık ettiği görülmüştür.

**WIN 55,212-2'nin Artan Dozlarında Oluşturduğu Antinosiseptif Etki**

Kannabinoid reseptör agonisti WIN 55,212-2 i.p. olarak 1, 3, 10 mg/kg dozlarında uygulanıp, "hot plate" ve "tail flick" testlerinde antinosiseptif etkileri ölçülmüştür. Artan dozlarında antinosiseptif etkisinin de güçlendiği görülmüştür (Şekil 7).

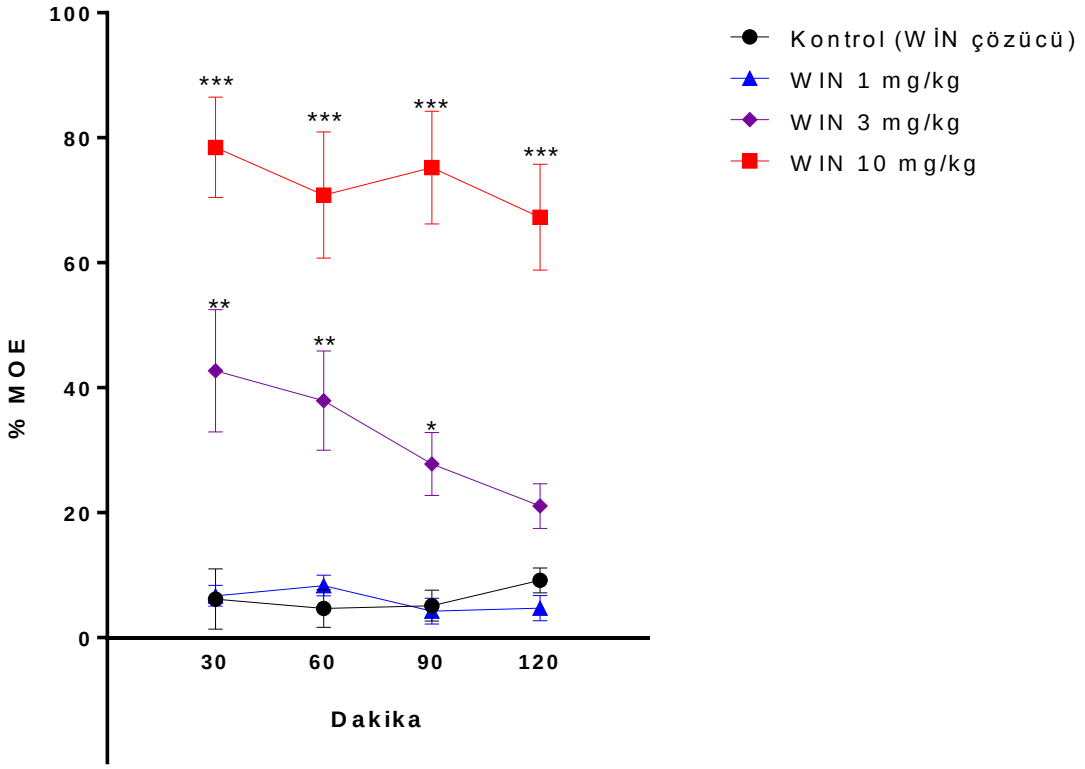



**Şekil 7. WIN 55,212-2'nin artan dozlarında oluşturduğu antinosiseptif etki ("hot plate" testinde).**

**MOE:** Maksimal olası etki.

*p≤0,0001 kontrol grubuna göre; tekrarlayan ölçümler için iki yönlü ANOVA, post hoc Bonferroni t testi.

"Tail flick" testinde de "hot plate" testindeki gibi artan dozlarda WIN 55,212-2'nin antinosiseptif etkisinin arttığı gözlenmiştir (Şekil 8).



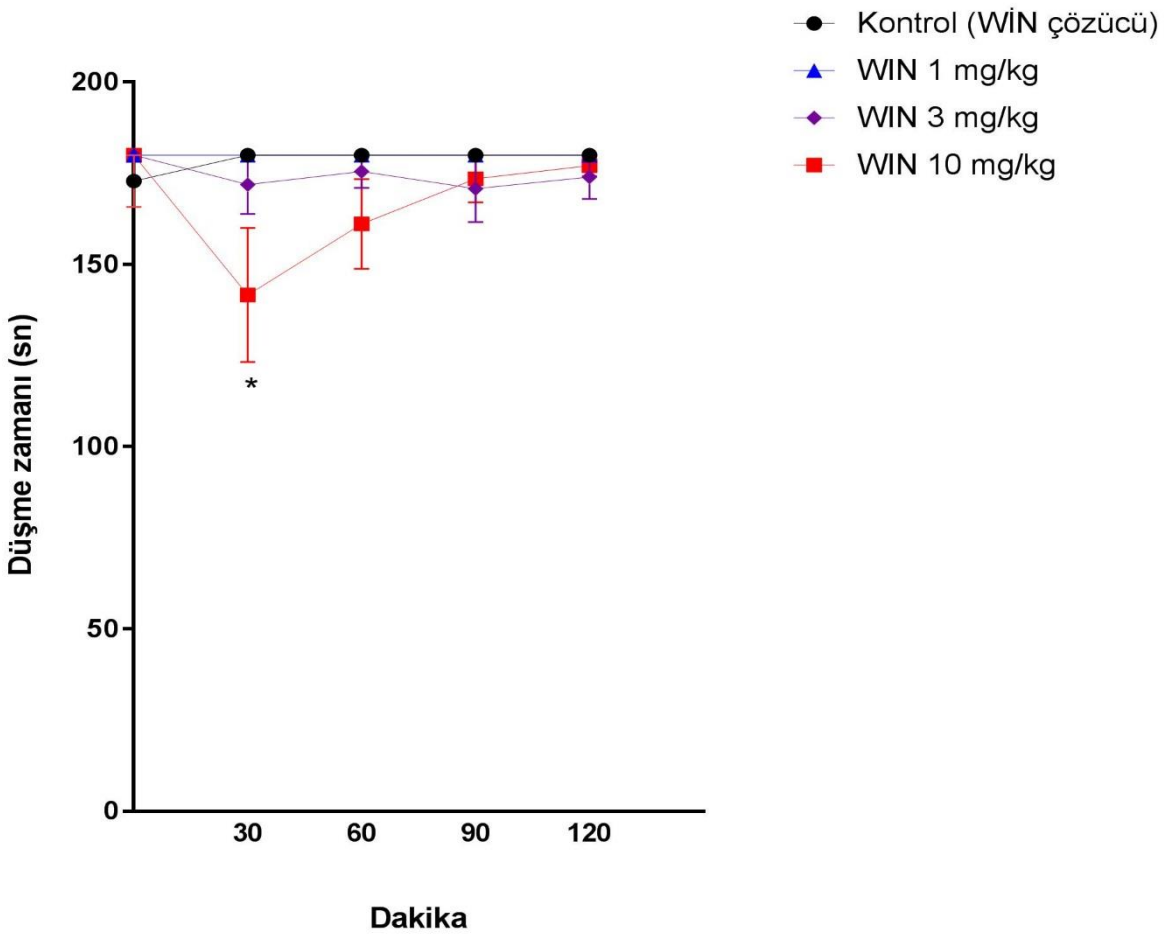

**Şekil 8. WIN 55,212-2'nin artan dozlarında oluşturduğu antinosiseptif etki ("tail flick" testinde).**

**MOE:** Maksimal olası etki.

*p≤0,05 **p≤0,001 ***p≤0,0001 kontrol grubuna göre; tekrarlayan ölçümler için iki yönlü ANOVA, post hoc Bonferroni t testi.

### WIN 55,212-2'nin Artan Dozlarının Motor Koordinasyon Üzerine Etkisi

"Rotarod" testiyle WIN 55,212-2'nin artan dozlarında farelerin motor koordinasyonları değerlendirildi. WIN 55,212-2'nin 10 mg/kg dozunda uygulandıktan 30 dk sonra yapılan ölçümde, farelerin 180 sn boyunca, dönen silindir üzerinde duramadığı, kontrol grubuna göre durabildikleri sürelerin anlamlı şekilde azaldığı görülmüştür (p≤0,0001). 60., 90. ve 120. dk'lardaki ölçümlerde ise anlamlı bir azalma görülmemiştir (Şekil 9).

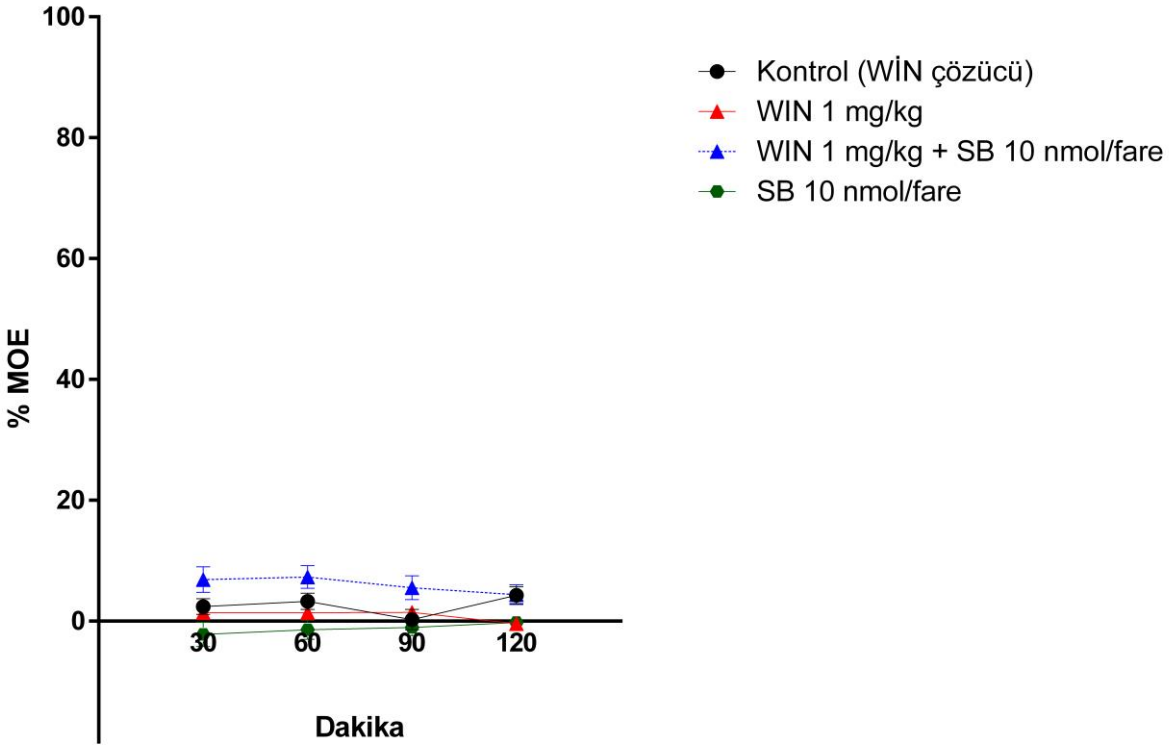



**Şekil 9. WIN 55,212-2'nin motor koordinasyon üzerine etkisi ("rotarod"testinde).**

*p≤0,0001 kontrol grubuna göre; tekrarlayan ölçümler için iki yönlü ANOVA, post hoc *Bonferroni t* testi.

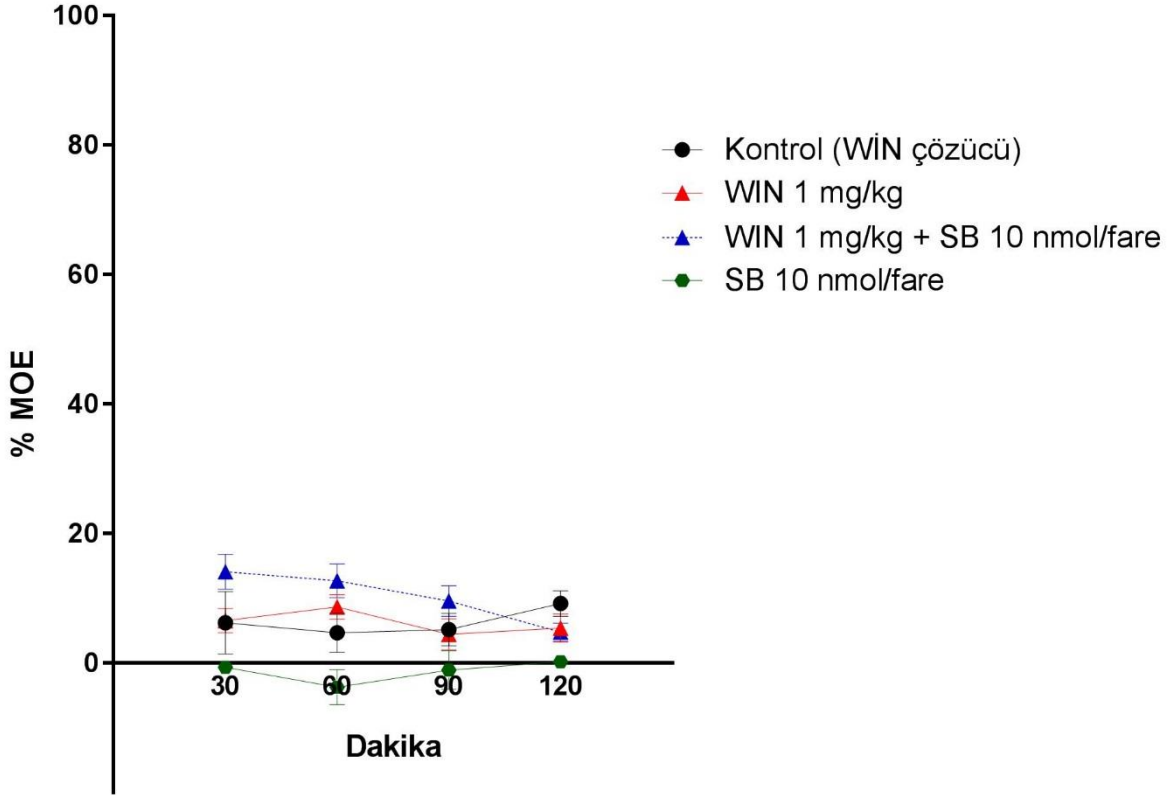
**Sistemik Uygulanan WIN 55,212-2'nin 1, 3, 10 mg/kg Dozlarında Oluşturduğu Antinosiseptif Etkiye 5-HT$_{5A}$ Reseptörlerinin Katılımı**

"Hot plate" testinde WIN 55,212-2'nin 1 mg/kg dozunda anlamlı bir antinosiseptif etki ortaya çıkartmamıştır. SB-699551 tek başına veya WIN 55,212-2 ile birlikte kullanıldığında da anlamlı bir etki ortaya çıkmamıştır (Şekil 10).



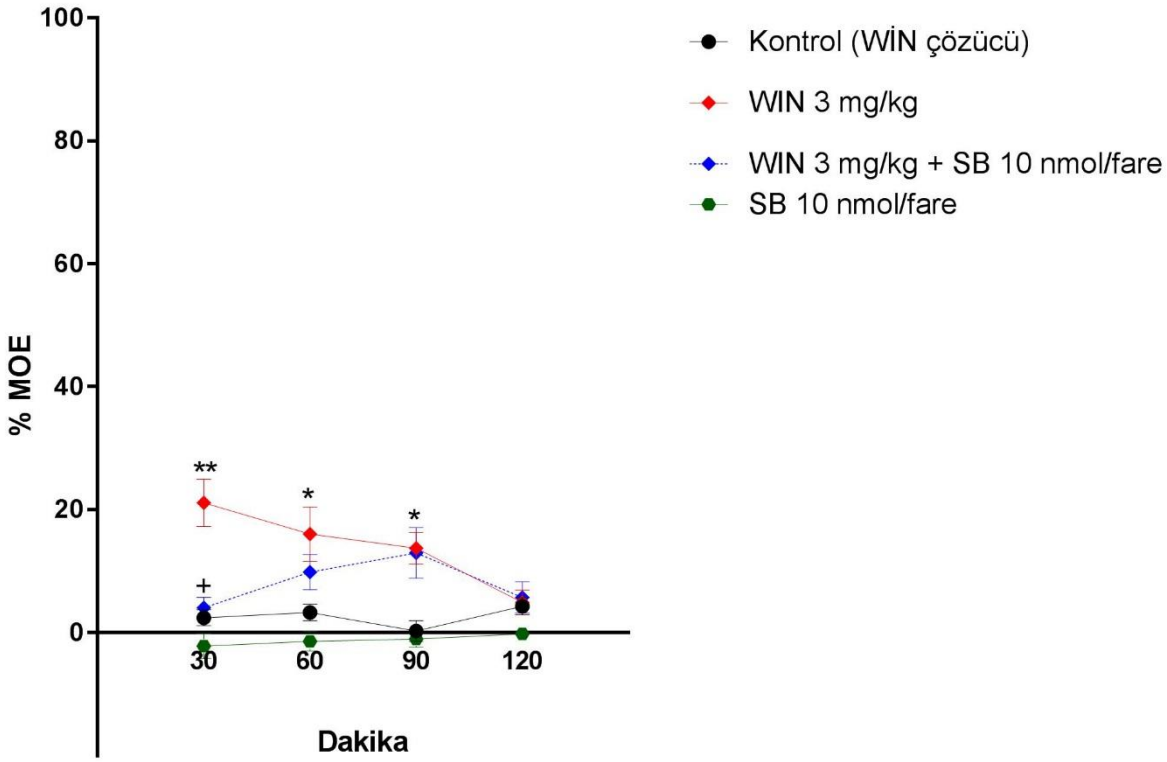

**Şekil 10. WIN 55,212-2'nin 1 mg/kg dozunda oluşturduğu antinosiseptif etkiye spinal 5-HT$_{5A}$ reseptörlerinin katılımı ("hot plate" testinde).**
**MOE:** Maksimal olası etki.

"Tail flick" testinde, 1 mg/kg dozunda WIN 55,212-2 kontrol grubuna göre anlamlı bir antinosiseptif etki göstermemiştir. Aynı şekilde, SB-699551 tek başına veya WIN 55,212-2 ile birlikte uygulandığında da herhangi bir antinosiseptif etki görülmemiştir (Şekil 11).




**Şekil 11. WIN 55,212-2'nin 1 mg/kg dozunda oluşturduğu antinosiseptif etkiye spinal 5-HT$_{5A}$ reseptörlerinin katılımı ("tail flick" testinde).**
**MOE:** Maksimal olası etki.

"Hot plate" testinde WIN 55,212-2'nin 3 mg/kg dozunda i.p. uygulanmasıyla 30. ve 60. dk'larda belirgin derecede görülen antinosiseptif etkinlik (p≤0,0001), 90. dk'da azalmakla birlikte devam etmiş (p≤0,01), 120. dk'da ise tamamen ortadan kalkmıştır. SB-699551 uygulaması WIN 55,212-2'nin (3 mg/kg) oluşturduğu antinosiseptif etkiyi 30. dk'da tamamen ortadan kaldırmıştır (p≤0,0001, Şekil 12).

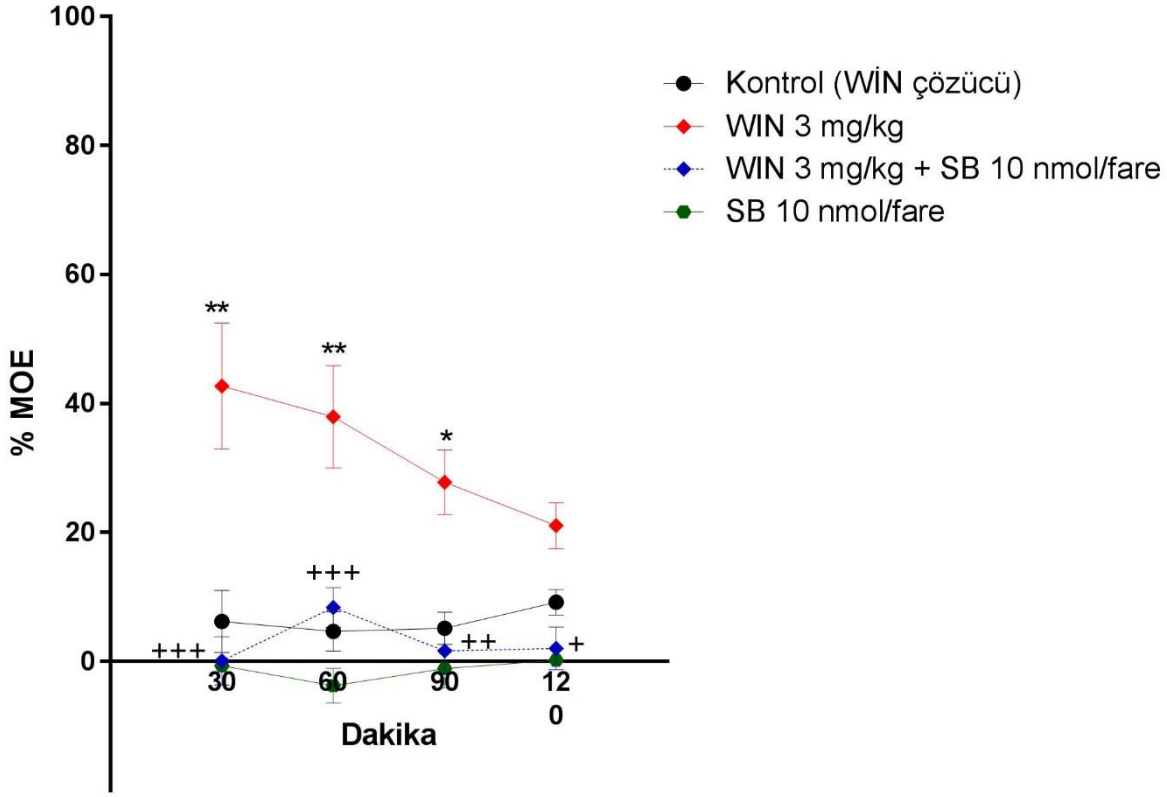



**Şekil 12. WIN 55,212-2'nin 3 mg/kg dozunda oluşturduğu antinosiseptif etkiye spinal 5-HT$_{5A}$ reseptörlerinin katılımı ("hot plate" testinde).**

**MOE:** Maksimal olası etki.

*p≤0,01 **p≤0,0001 kontrol grubuna göre; +p≤0,0001 WIN 55,212-2 (3 mg/kg)'a göre, tekrarlayan ölçümler için iki yönlü ANOVA, post hoc *Bonferroni t* testi.

"Tail flick" testinde 3 mg/kg dozunda uygulanan WIN 55,212-2 30. ve 60. dk'larda belirgin antinosiseptif etkinlik oluştururken (p≤0,0001), 90. dk'da azalsa da etkisi devam etmiştir (p≤0,01), 120. dk'da ortadan kalkmıştır. SB-699551 uygulanması WIN 55,212-2'nin (3 mg/kg) oluşturduğu antinosiseptif etkiyi 30. ve 60. dk'larda güçlü şekilde azaltmıştır (p≤0,0001). Antagonistin etkisi azalmakla birlikte 90. dk'da (p≤0,001) ve 120. dk'da (p≤0,05) da devam etmiştir (Şekil 13).

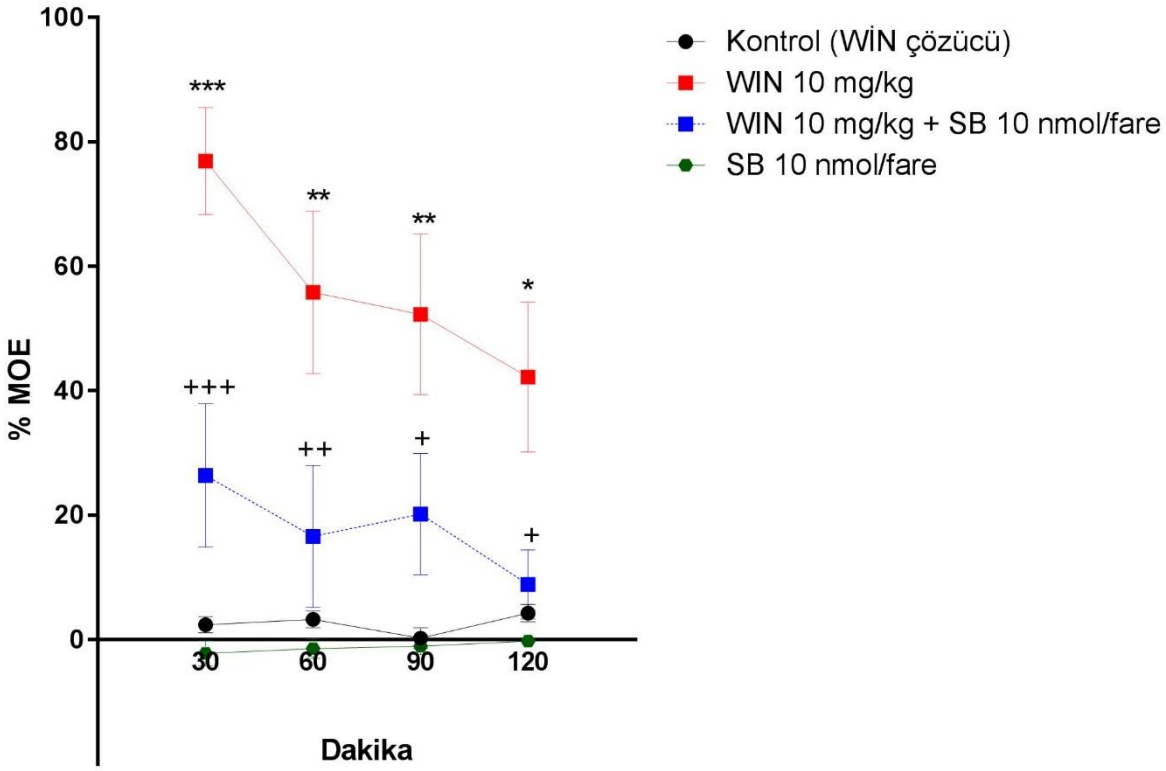



**Şekil 13. WIN 55,212-2'nin 3 mg/kg dozunda oluşturduğu antinosiseptif etkiye spinal 5-HT$_{5A}$ reseptörlerinin katılımı ("tail flick" testinde).**

**MOE:** Maksimal olası etki.

*p≤0,01 **p≤0,0001 kontrol grubuna göre; +p≤0,05 ++p≤0,001 +++p≤0,0001 WIN 55,212-2 (3 mg/kg)'a göre, tekrarlayan ölçümler için iki yönlü ANOVA, post hoc *Bonferroni t* testi.

"Hot plate" testinde WIN 55,212-2'nin 10 mg/kg dozunda i.p. uygulanmasıyla oluşturduğu antinosiseptif etki daha da artmıştır. Kontrol grubuna göre 30. dk'da (p≤0,0001), 60. ve 90. dk'larda (p≤0,001), ve 120. dk'da (p≤0,05) anlamlılık gözlenmiştir. SB-699551 uygulanması WIN 55,212-2'nin (10 mg/kg) oluşturduğu antinosiseptif etkiyi 30. (p≤0,001), 60. (p≤0,01), 90. ve 120. dk'larda (p≤0,05) azaltmıştır (Şekil 14).

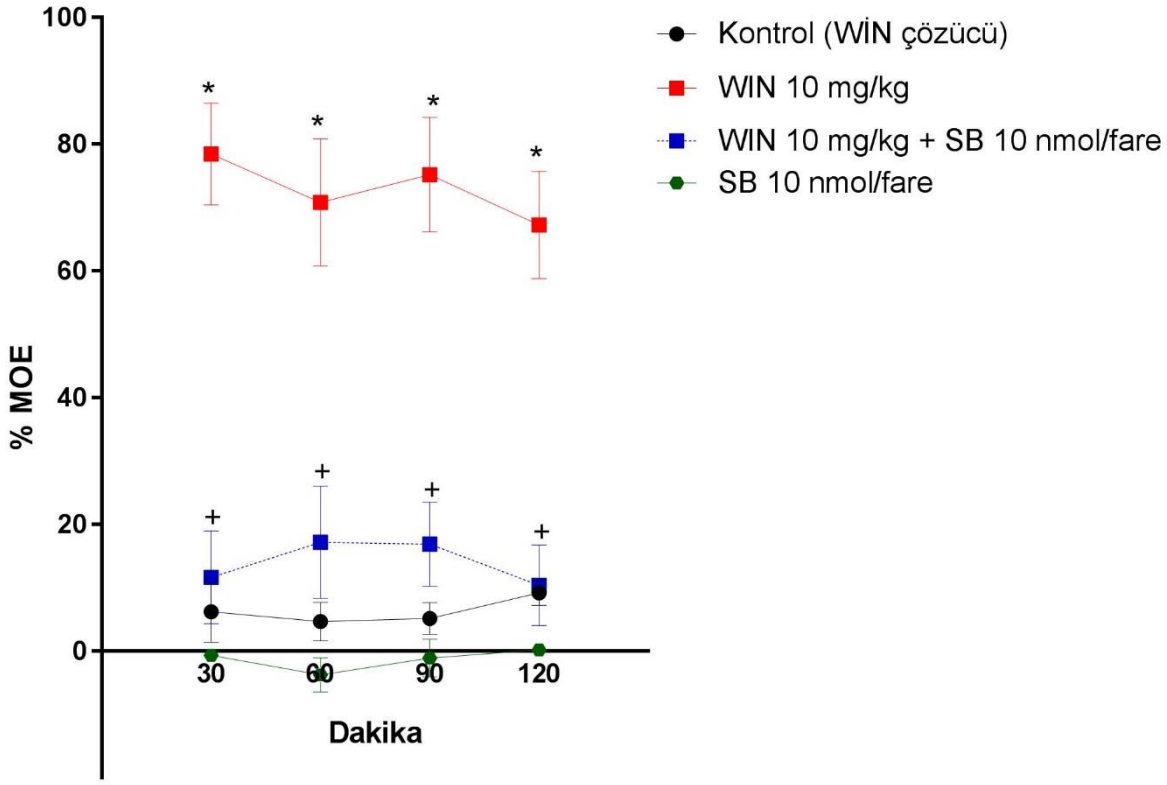



**Şekil 14. WIN 55,212-2'nin 10 mg/kg dozunda oluşturduğu antinosiseptif etkiye spinal 5-HT$_{5A}$ reseptörlerinin katılımı ("hot plate" testinde).**

**MOE:** Maksimal olası etki.

*p≤0,05 **p≤0,001 ***p≤0,0001 kontrol grubuna göre; +p≤0,05 ++p≤0,01 +++p≤0,001 WIN 55,212 (10 mg/kg)'a göre; tekrarlayan ölçümler için iki yönlü ANOVA, post hoc *Bonferroni t* testi.

"Tail flick" 10 mg/kg dozunda uygulanan WIN 55,212-2, 2 saat süreyle güçlü bir antinosiseptif etkinlik ortaya çıkartmıştır (p≤0,0001). SB-699551 uygulanması WIN 55,212-2'nin (10 mg/kg) oluşturduğu antinosiseptif etkiyi belirgin derecede azaltmıştır (p≤0,0001, Şekil 15).




**Şekil 15. WIN 55,212-2'nin 10 mg/kg dozunda oluşturduğu antinosiseptif etkiye spinal 5-HT$_{5A}$ reseptörlerinin katılımı ("tail flick" testinde).**

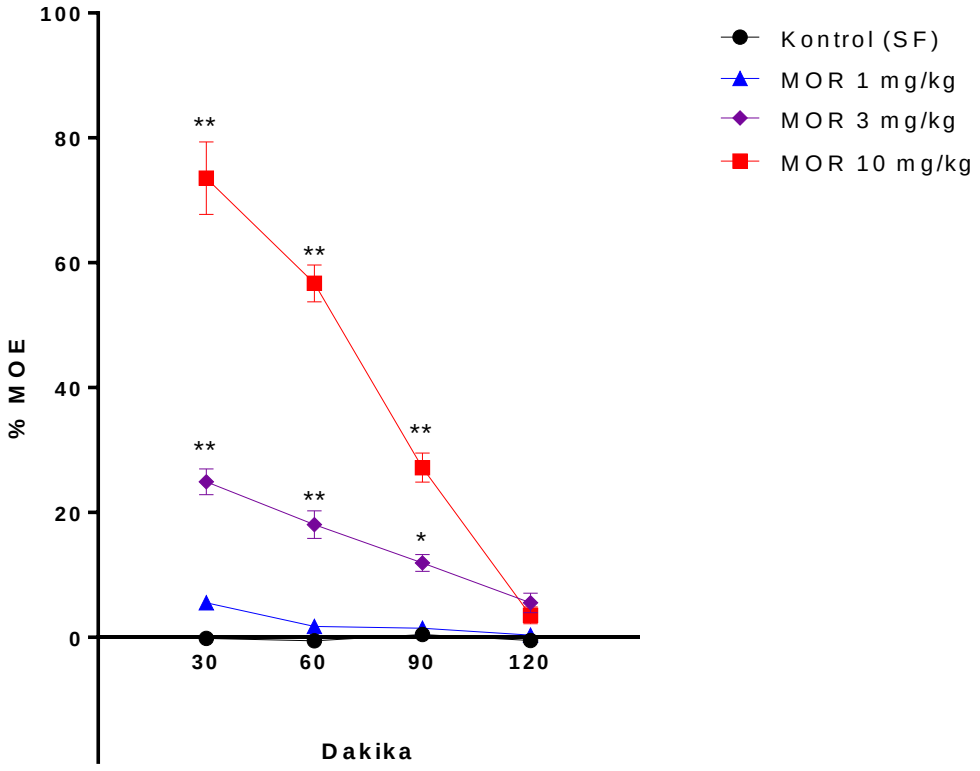
**MOE:** Maksimal olası etki.

*p≤0,0001 kontrol grubuna göre; +p≤0,0001 WIN 55,212 (10 mg/kg)'a göre; tekrarlayan ölçümler için iki yönlü ANOVA, post hoc *Bonferroni t* testi.

**Morfin'in Artan Dozlarında Oluşturduğu Antinosiseptif Etki**

Opioid reseptör agonisti morfin i.p. olarak 1, 3, 10 mg/kg dozlarında uygulanıp, "hot plate" ve "tail flick" testlerinde antinosiseptif etkileri ölçülmüştür. Morfin'in artan dozlarında antinosiseptif etkisinin de güçlendiği görülmüştür.

"Hot plate" testinde morfin 1 mg/kg dozunda sadece 30. dk'da anlamlı bir antinosiseptif etkinlik göstermiş, artan dozlarında belirgin antinosiseptif etki ortaya çıkmıştır (Şekil 16).

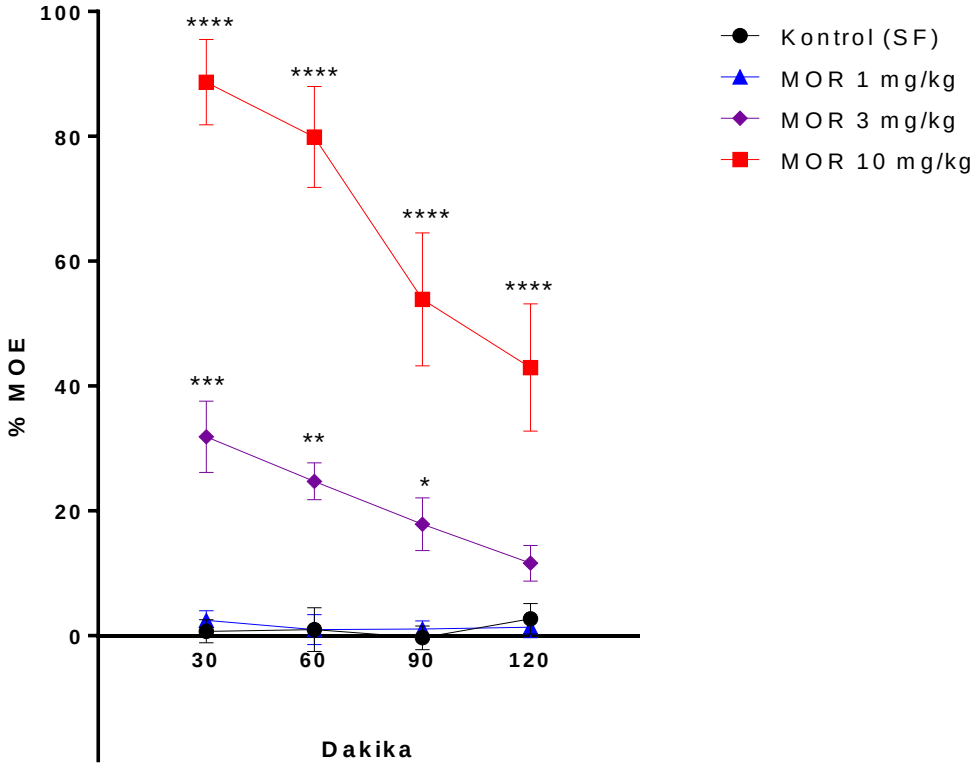



**Şekil 16. Morfin'in artan dozlarında oluşturduğu antinosiseptif etki ("hot plate" testinde).**

**MOE:** Maksimal olası etki.

*p≤0,001 **p≤0,0001 kontrol grubuna göre; tekrarlayan ölçümler için iki yönlü ANOVA, post hoc Bonferroni t testi.

"Tail flick" testinde 1 mg/kg morfin anlamlı bir antinosiseptif etki göstermemiş, artan dozlarında belirgin antinosiseptif etki ortaya çıkmıştır (Şekil 17).

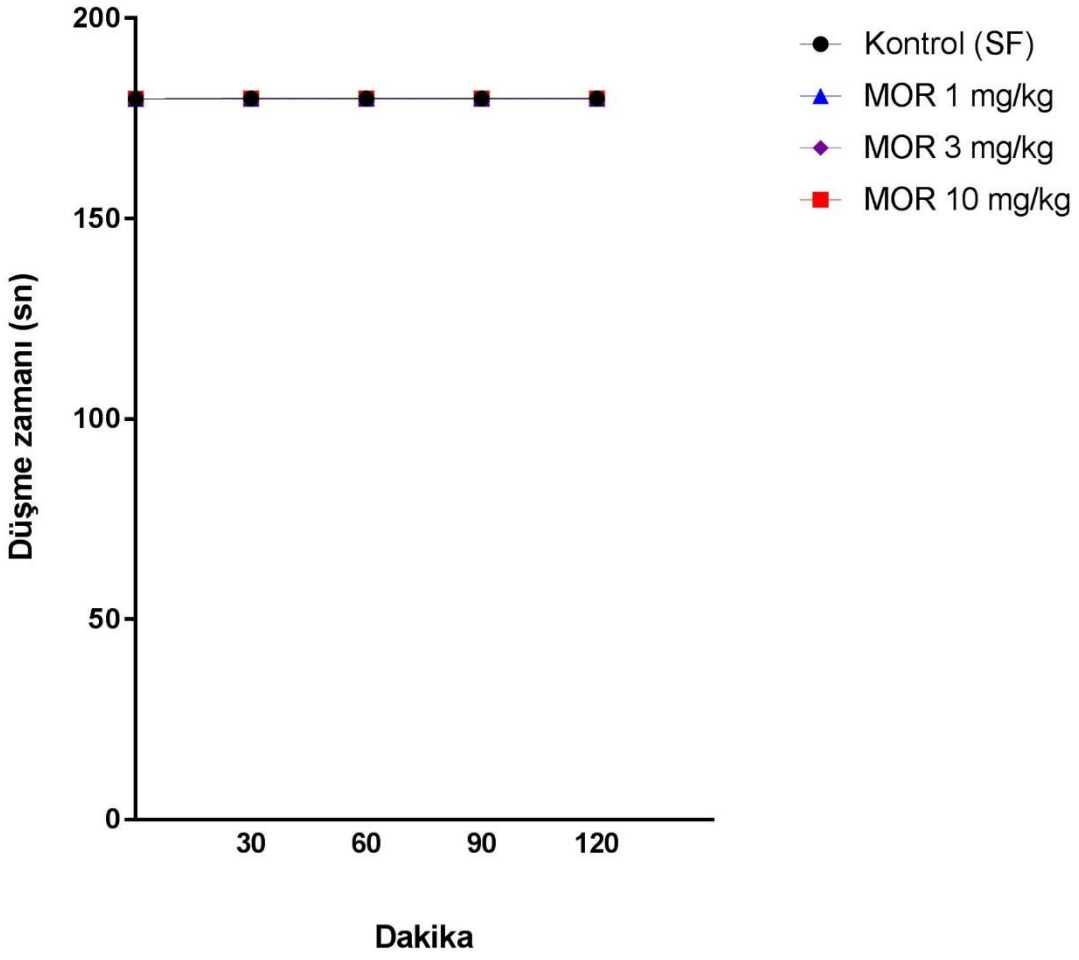



**Şekil 17. Morfin'in artan dozlarında oluşturduğu antinosiseptif etki ("tail flick" testinde).**

**MOE:** Maksimal olası etki.

*p≤0,05 **p≤0,01 ***p≤0,001 ****p≤0,0001 kontrol grubuna göre; tekrarlayan ölçümler için iki yönlü ANOVA, post hoc Bonferroni t testi.

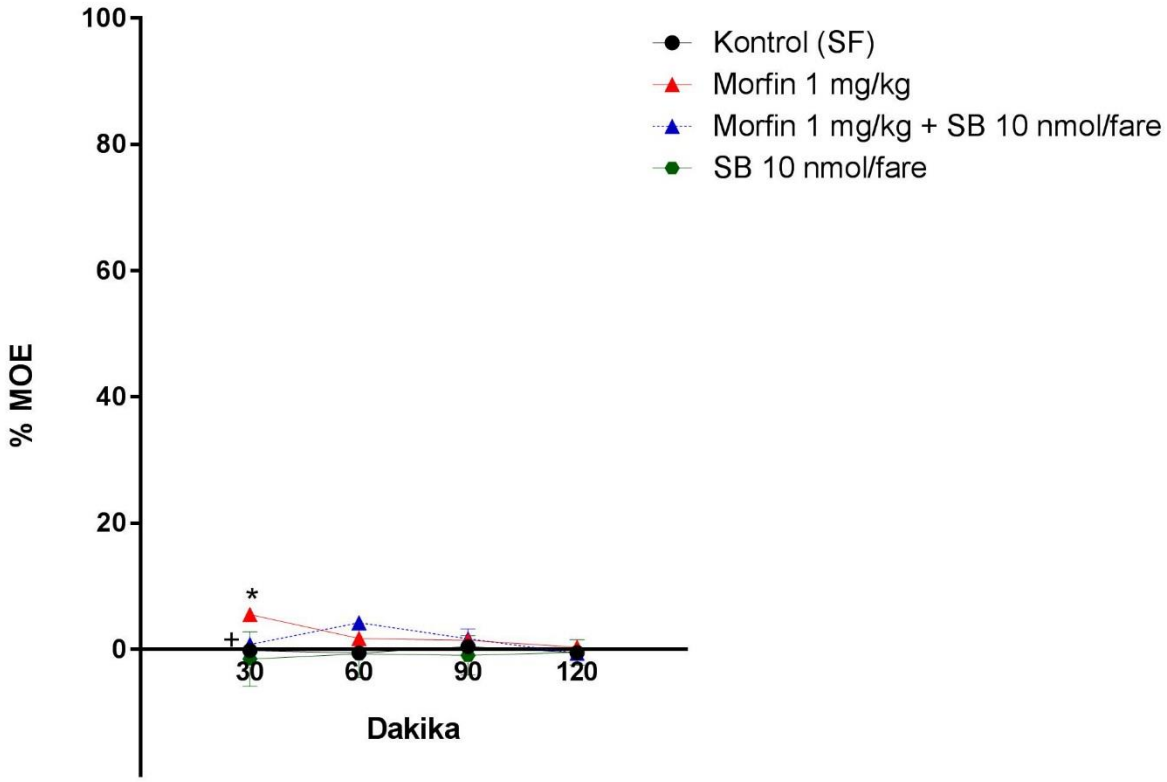
“Rotarod” testinde, morfin hiçbir dozunda motor fonksiyonu bozmamıştır (Şekil 18).




**Şekil 18. Morfin’in motor koordinasyon üzerine etkisi (“rotarod” testinde).**

**Sistemik Uygulanan Morfin'in 1, 3, 10 mg/kg Dozlarında Oluşturduğu Antinosiseptif Etkiye 5-$HT_{5A}$ Reseptörlerinin Katılımı**

"Hot plate" testinde 1 mg/kg dozunda uygulanan morfin sadece 30. dk'da anlamlı bir antinosiseptif etki ortaya çıkartmıştır (p≤0,001). İ.t. SB-699551 uygulanması morfin'in 30. dk'da oluşturduğu bu antinosiseptif etkiyi anlamlı şekilde azaltmıştır (Şekil 19).

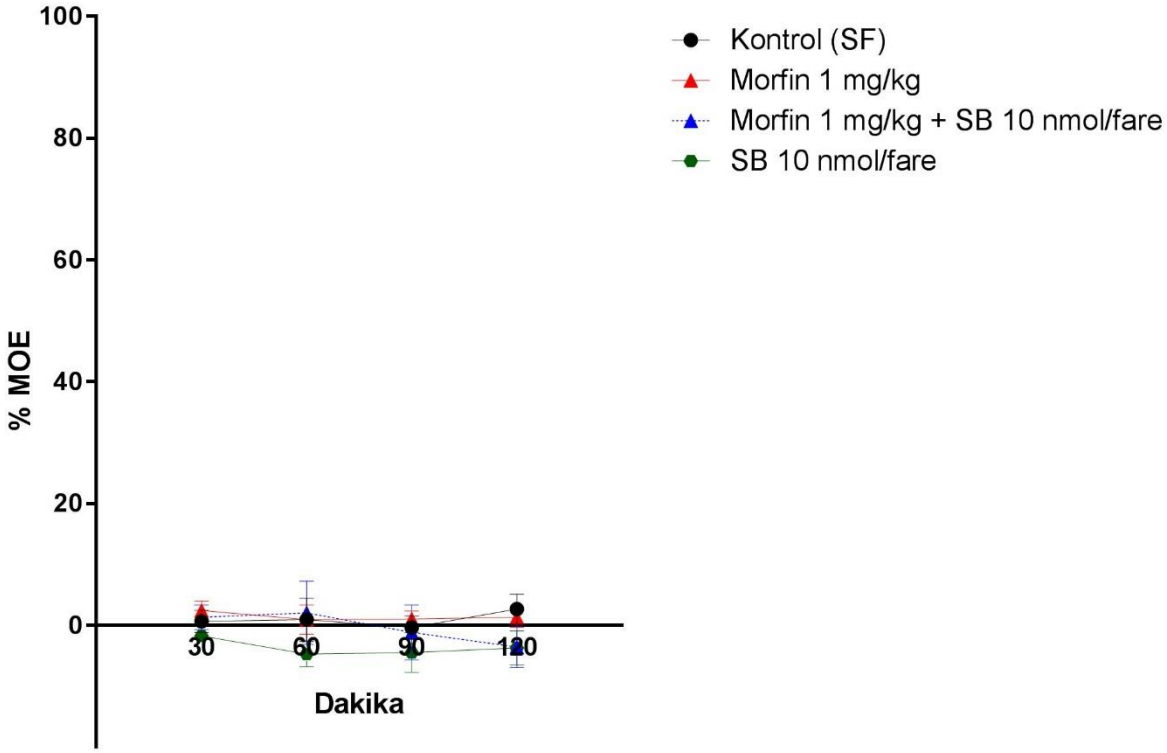



**Şekil 19. Morfin'in 1 mg/kg dozunda oluşturduğu antinosiseptif etkiye spinal 5-$HT_{5A}$ reseptörlerinin katılımı ("hot plate" testinde).**

**MOE:** Maksimal olası etki.

*p≤0,001 kontrol grubuna göre; +p≤0,01 morfin (1 mg/kg)'a göre; tekrarlayan ölçümler için tekrarlayan ölçümler için iki yönlü ANOVA, post hoc *Bonferroni t* testi.

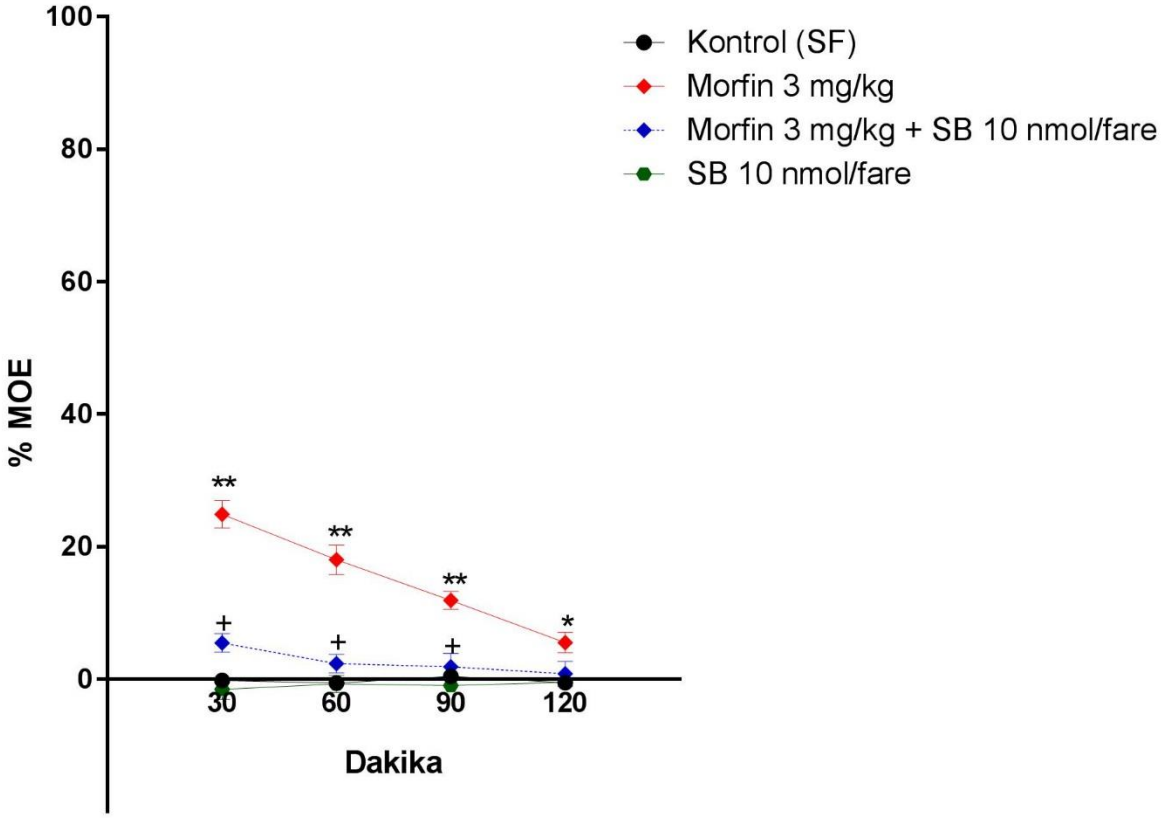
"Tail flick" testinde 1 mg/kg dozunda uygulanan morfin 2 saat boyunca anlamlı bir antinosiseptif etkinlik ortaya çıkartmamıştır. Aynı şekilde, SB-699551 tek başına ve morfin ile birlikte uygulandığında da anlamlı bir etki gözlenmemiştir (Şekil 20).




**Şekil 20. Morfin'in 1 mg/kg dozunda oluşturduğu antinosiseptif etkiye spinal 5-$HT_{5A}$ reseptörlerinin katılımı ("tail flick" testinde).**

**MOE:** Maksimal olası etki.

"Hot plate" testinde 3 mg/kg dozunda uygulanan morfin 30., 60. ve 90. dk'larda güçlü bir antinosiseptif etkinlik ortaya çıkartmış (p≤0,0001), 120. dk'da ise etkisi azalsa da devam etmiştir (p≤0,05). SB-699551 uygulanması 30., 60. ve 90. dk'larda morfin'in oluşturduğu antinosiseptif etkiyi güçlü şekilde inhibe etmiştir (p≤0,0001, Şekil 21).

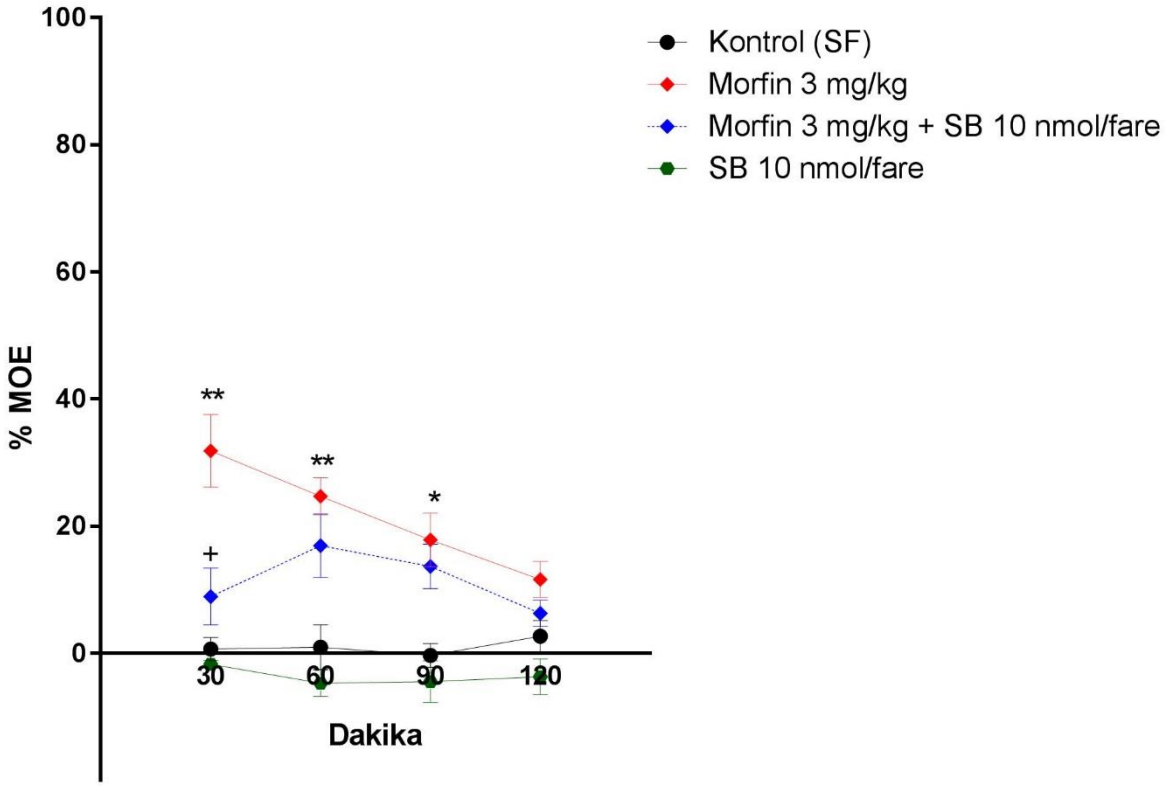



**Şekil 21. Morfin'in 3 mg/kg dozunda oluşturduğu antinosiseptif etkiye spinal 5-$HT_{5A}$ reseptörlerinin katılımı ("hot plate" testinde).**

**MOE:** Maksimal olası etki.

*p≤0,05 **p≤0,0001 kontrol grubuna göre; +p≤0,0001 morfin (3 mg/kg)'a göre; tekrarlayan ölçümler için iki yönlü ANOVA, post hoc *Bonferroni t* testi.

"Tail flick" testinde 3 mg/kg dozunda uygulanan morfin'in oluşturduğu antinosiseptif etki 30. ve 60. dk'larda daha güçlü olmasına karşın (p≤0,0001), 90. dk'da devam etmiştir (p≤0,01). SB-699551 uygulanması ise 30. dk'da 3mg/kg uygulanan morfin'in antinosiseptif etkisini güçlü şekilde inhibe etmiştir (p≤0,0001, Şekil 22).

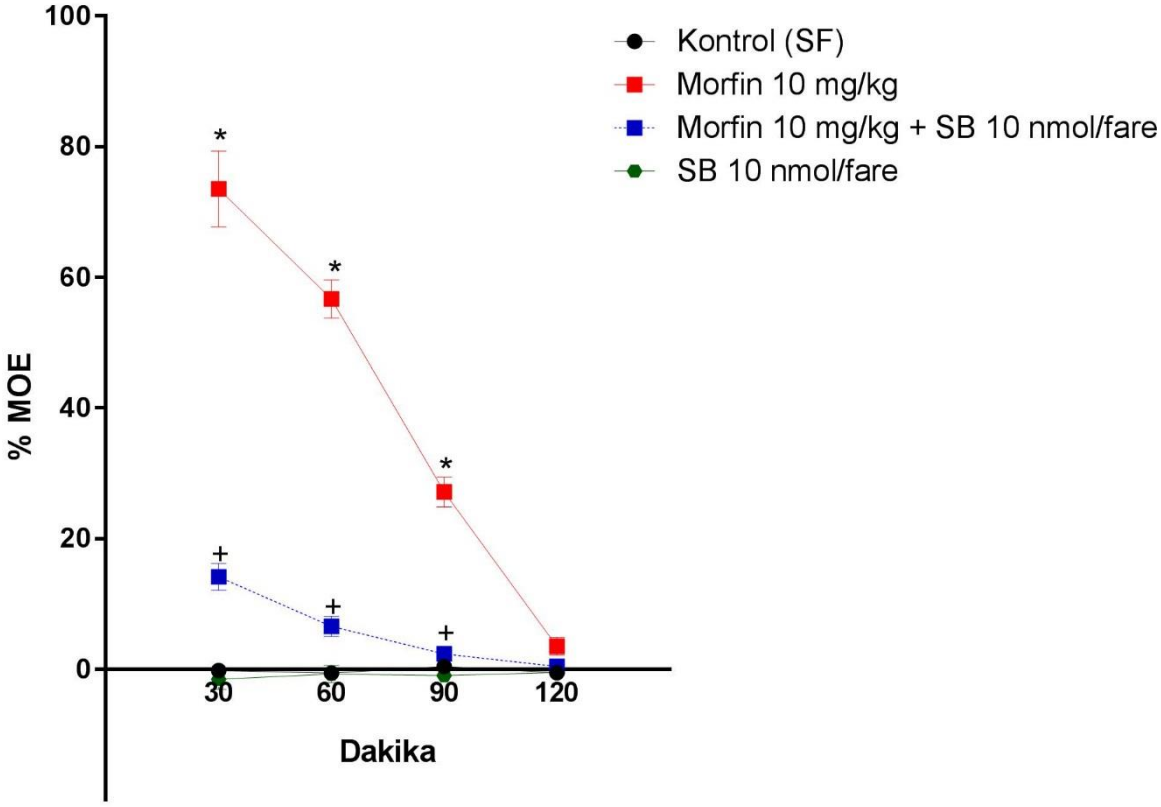



**Şekil 22. Morfin'in 3 mg/kg dozunda oluşturduğu antinosiseptif etkiye spinal 5-$HT_{5A}$ reseptörlerinin katılımı ("tail flick" testinde).**

**MOE:** Maksimal olası etki.

*p≤0,01 **p≤0,0001 kontrol grubuna göre; +p≤0,0001 morfin (3 mg/kg)'a göre; tekrarlayan ölçümler için iki yönlü ANOVA, post hoc *Bonferroni t* testi.

"Hot plate" testinde 10 mg/kg dozunda uygulanan morfin'in oluşturduğu antinosiseptif etki 30., 60., 90. dk'larda güçlü şekilde devam etmiş (p≤0,0001), 120. dk'da tamamen ortadan kalkmıştır. SB-699551 uygulanması morfin'in oluşturduğu antinosiseptif etkiyi 30., 60. ve 90. dk'larda güçlü şekilde inhibe etmiştir (p≤0,0001, Şekil 23).

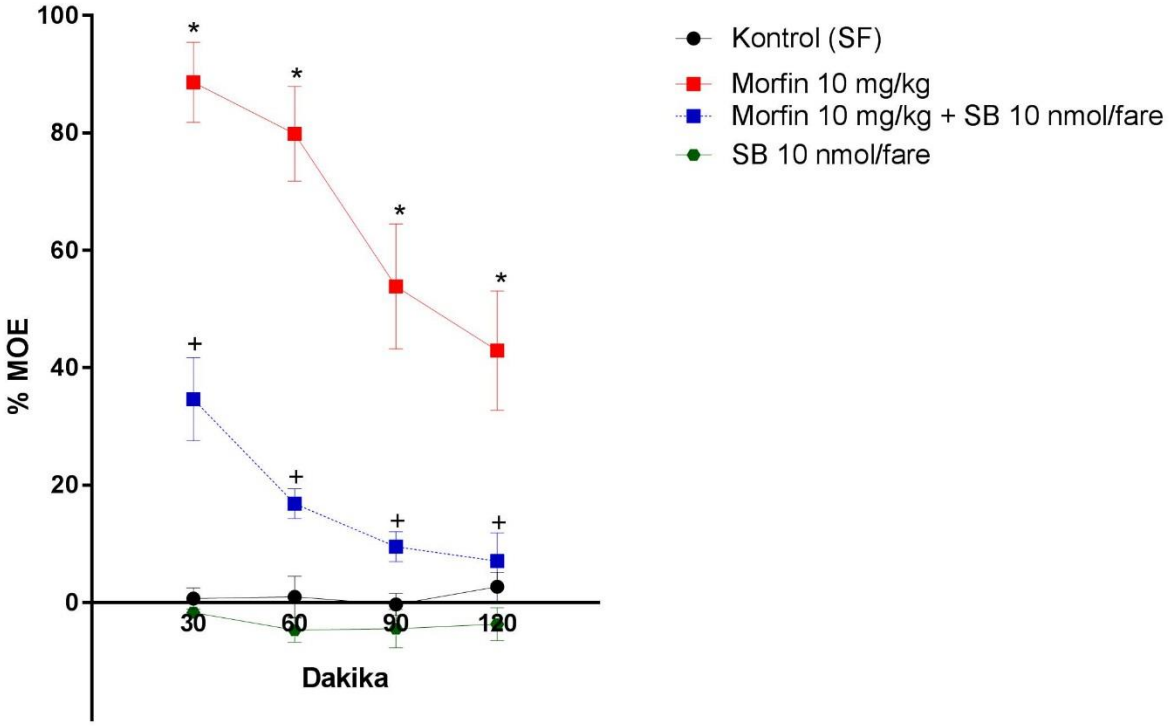



**Şekil 23. Morfin'in 10 mg/kg dozunda oluşturduğu antinosiseptif etkiye spinal 5-HT$_{5A}$ reseptörlerinin katılımı ("hot plate" testinde).**

**MOE:** Maksimal olası etki.

*p≤0,0001 kontrol grubuna göre; +p≤0,0001 morfin (10 mg/kg)'a göre; tekrarlayan ölçümler için iki yönlü ANOVA, post hoc *Bonferroni t* testi.

"Tail flick" testinde 10 mg/kg dozunda uygulanan morfin'in oluşturduğu antinosiseptif etki 2 saat süreyle güçlü bir şekilde devam etmiştir (p≤0,0001). SB-699551 uygulanması morfin'in oluşturduğu antinosiseptif etkiyi yine 2 saat boyunca güçlü bir şekilde inhibe etmiştir (p≤0,0001, Şekil 24).




**Şekil 24. Morfin'in 10 mg/kg dozunda oluşturduğu antinosiseptif etkiye spinal 5-HT$_{5A}$ reseptörlerinin katılımı ("tail flick" testine göre).**

**MOE:** Maksimal olası etki.

*p≤0,0001 kontrol grubuna göre; +p≤0,0001 morfin (10 mg/kg)'a göre; tekrarlayan ölçümler için iki yönlü ANOVA, post hoc *Bonferroni t* testi.

# TARTIŞMA

Marijuana olarak bilinen *Cannabis* bitkisi yüzyıllardır ağrı tedavisinde kullanılmaktadır. Son 20 yılda bu analjezik etkinin oluştuğu nöral yolaklar ve moleküler mekanizmalar aydınlatılmaya başlanmıştır. 1990'ların başında araştırmacılar bu bitkinin ana komponenti olan THC'nin G-proteinine bağlı iki tip reseptöre yüksek afinite gösterdiğini saptamıştır. $CB_1$'in; korteks, bazal gangliyonlar, hipokampüs, serebellum'da ve özellikle talamus ve amigdala gibi nosiseptif ağrı algı merkezlerinde yoğun olarak yerleştiklerini görmüşlerdir. Aynı zamanda PAG'de ve omuriliğin SG tabakasında da yoğun oldukları tespit edilmiştir. Bu bölgeler afferent nöronlardan alınan nosiseptif ağrı uyarısının iletim bölgeleri olup aynı zamanda inici inhibitör etki ile de yakından ilişkilidir. $CB_1$ reseptörü medulla oblongata ve omurilikte ağrı sinyallerini işleyen yapılardan olan arka boynuz yüzeyel laminalarında (özellikle intrinsik ara nöronların aksonlarında) ve omurilik dorsolateral fonikülünde yoğun olarak bulunmaktadır. $CB_2$ reseptörleri ise majör olarak lenfositlerde bulunmakta olup bağışıklık sistemi üzerine etkilerinin olduğu düşünülmektedir (5,67).

Bu reseptörlerin tanımlanması endokannabinoidlerin keşfi için öncü bir adım olmuştur. Endokannabinoidler, kannabinoid reseptörlerini aktive eden biyoaktif lipidlerdir. İki ana endokannabinoid olan anandamid ve 2-AG; araşidonik asit içeren fosfolipidlerin enzimatik hidrolizi sonucu oluşup, $CB_1$ ve $CB_2$ reseptörüne bağlandıkları görülmüştür. Beyinde ve diğer dokularda az miktarda bulunup ağrı algısı, ruh hali, iştah ve hafıza gibi çeşitli serebral fonksiyonların düzenlenmesine katılırlar. Zararlı uyaranların endokannabinoidlerin salınımını arttırdığı görülmüştür.

Doğal ve sentetik kannabinoidler, endokannabinoidleri taklit ederek etki göstermektedirler. Haklarında nisbeten az bilgi olmasına rağmen endokannabinoidler tonusları lokal olarak artırılıp kannabinoidlere bağlı yan etkiler azaltılarak analjezik etkinlik elde etmek için potansiyel hedefler olarak görülmektedirler (5,12,68).

Kannabinoidlerin analjezik etkinliklerini gösteren çok sayıda çalışma bulunmaktadır. Bazı çalışmalarda doza bağlı motor aktivite artmakta bazılarında ise azalmaktadır. Spinal nosiseptif aktivitenin ölçümü için iyi bir marker olan c-fos, zararlı uyaranlarla eksprese edilir. Kannabinoidlerin c-fos ekspresyonunu bloke edip, omurilik nöronlarının elektrofizyolojik cevaplarını baskıladıkları görülmüştür (68). Isı ile zararlı uyarı oluşturulan deneklerde kannabinoid reseptör agonistleri arka boynuz sinir hücrelerindeki uyarıyı azaltırken, $CB_1$ selektif antagonisti olan SR141716A bu agonistlerin oluşturduğu antinosisepsiyonu engellemiştir (62). Bir başka çalışmada sıçan beyin sapında RVM'de görülen sinirsel aktivitenin geçici olarak inhibe edilmesi sistemik uygulanan kannabinoidlerin analjezik etkilerini önlemiş ancak motor aktiviteyi etkilememiştir. Bu durum RVM'den geçen duyusal yolakları kannabinoid reseptör agonistlerinin hedeflediklerini göstermektedir (5,68).

Çalışmamızda, daha önceden de çeşitli araştırmalarda gösterildiği ve beklendiği şekilde, kannabinoid reseptör agonisti WIN 55,212-2 yüksek dozlarında daha belirgin olmak üzere güçlü analjezik etkinlik ortaya çıkarttı. Bu etki hem "tail flick" hem de "hot plate" testlerinde gözlendi. Motor fonksiyon üzerine etkisi değerlendirildiğinde ise, WIN 55,212-2'nin yüksek dozlarında lokomotor fonksiyonu bozucu etkisi bir kez daha görüldü. Bu bulgular, kannabinoidlerin güçlü analjezik etkiye sahip oldukları ancak başta santral etkileri olmak üzere istenmeyen etkilerinin azaltılması ile tedavide kullanılabilecekleri yaklaşımını bir kez daha destekleyici niteliktedir. Kannabinoidlerin mekanizmalarının tam olarak aydınlatılması da klinikte kullanımları açısından kolaylık sağlayacaktır. Böylelikle, son senelerde multipl skleroz, nöropatik ağrı gibi bazı endikasyonlar için onaylanmış olan bu grup ilaçlar, çok daha fazla endikasyonlarda kullanılabileceklerdir.

Opioidler de kannabinoidler gibi analjezik etkileri için çok eskiden beri kullanılmaktadır. M.Ö. 3300 yılında Sümerlerden başlayarak günümüze gelen bilgiler opioidlerin analjezik etkileri için binyıllardan beri kullanıldığını göstermektedir. Morfin ve diğer opioidlerin omurilik ve beyindeki nöronlar üzerinde spesifik reseptörlerle

etkileştiği bilinmektedir. Bu reseptörlerin tanımlanması ile opiyat benzeri etkiler gösteren endojen nöropeptidler keşfedilmiştir. Opioid reseptör antagonisti olan naloksonun bulunuşu beyinde endojen opioidlerin varlığı hakkında ilk ipuçlarını vermiştir (12).

Opioid reseptörleri de kannabinoidler gibi G-proteinine bağlı reseptör ailesinden olup μ, δ, κ ve orfanin FQ şeklinde dört ana sınıfa ayrılmıştır. Morfin ve diğer opioid alkaloidler μ reseptörü için güçlü agonistlerdir. Analjezik etkilerini bu reseptörleri aktive etmek suretiyle güçlü bir şekilde göstermektedirler. μ reseptörlerinin; omurilik arka boynuzun yüzeyel laminalarında, RVM ve PAG'de yüksek konsantrasyonlarda bulunduğu tespit edilmiştir. Bu yapılar ağrı modülasyonunda rol alan önemli anatomik yapılardır. Bununla birlikte diğer opioid reseptörler gibi santral ve periferik sinirlerde de bulunurlar. Bu geniş dağılım sistemik uygulanan opioidlerin vücudun çoğu fizyolojik işlemlerini etkilemesini özellikle de ağrı fizyolojisi üzerindeki etkilerini açıklamaktadır (12,69).

Opioid reseptörlerin santral ve periferik sinir sisteminde yoğun olarak bulunduğunun gösterilmesinin ardından endojen opioidlerin bu reseptörlerle ilişkisinin keşfinde önemli bir dönüm noktası olmuştur. Endojen opioidler; POMC (β-endorfin, endomorfin-1, endomorfin-2), pro-enkefalin (met-enkefalin, lö-enkefalin), prodinorfin (dinorfin-A, dinorfin-B), pro-orfanin FQ (orfanin FQ) olmak üzere dört ana sınıfa ayrılmıştır. Bu opioid peptidler SSS ve nosiseptif ağrı iletim sistemlerinde lokalize olmuşlardır. Çeşitli çalışmalarda sıçan beyninin spesifik alanlarına düşük dozda morfin ve diğer opioidlerin mikroenjeksiyonu güçlü analjezi sağlamıştır. Bu çalışmalarda PAG'nin opioidlere en duyarlı alanlardan biri olduğu gösterilmiştir. Aynı araştırmalarda omurilik ve diğer bölgelere lokal uygulanmaları da çok güçlü analjezi sağlamıştır. Opioid reseptör antagonisti naloksonun PAG, NRM ve omurilikteki uygulanmaları da morfin analjezisini bloke etmiştir. Morfin'in santral analjezik etkisinin omurilik inici yolakların katılımı ile gerçekleştiği gösterilmiştir (12,26,45,62,69).

Kannabinoid agonisti WIN 55,212-2'nin olduğu gibi, çalışmamızda kullandığımız ve günümüzün en sık kullanılan opioid agonisti ilacı olan morfin'in sistemik olarak uygulanması da güçlü antinosiseptif etkinlik ortaya çıkartmıştır. Bu etki morfin'in yüksek dozlarında daha belirgin olup, hem "tail flick" hem de "hot plate" testinde gözlenmiştir. WIN 55,212-2'den farklı olarak morfin yüksek dozlarında dahi

motor fonksiyon üzerine olumsuz etki ortaya çıkartmamıştır. Hem nosisepsiyon hem de motor fonksiyon üzerine elde ettiğimiz morfin ile ilgili bu bulgularımız zaten beklenen sonuçlar olup, daha önce çeşitli araştırmalarda sayısız kez gösterilmiştir. Bununla birlikte, kannabinoidlerde olduğu gibi, opioidlerin de başta santral etkileri olmak üzere çok sayıda istenmeyen etkilerinin bulunduğu da bilinmektedir. Birçok farklı yaklaşım ile gerek kannabinoidlerin gerekse opioidlerin bu istenmeyen etkileri azaltılmaya çalışılmakta ve klinikte daha sıklıkla kullanılmalarının yolu açılmaya çalışılmaktadır. Düşük dozda kullanılmaları, diğer ilaçlarla ve birbirleriyle kombinasyon yapılması, ağrı ile ilgili bölgelerde endojen moleküllerin düzeylerinin lokal olarak artırılması, çalışmamızda olduğu gibi etki mekanizmalarının daha ayrıntılı olarak açıklığa kavuşturulması gibi yaklaşımlarla daha etkin bir şekilde tedavide kullanılmaları sağlanabilecektir.

Ağrı modülasyon yolakları prefrontal, anterior singulat ve insular korteks, amigdala, periventrikler ve posterolateral hipotalamus, PAG, dorsolateral pons ve RVM gibi bazı SSS öğelerini doğrudan ya da dolaylı yoldan kapsamaktadır (70-72). Bu modülasyon alanları spinal arka boynuz düzeyinde nosiseptif uyarının azaltılmasında ya da güçlendirilmesinde görevlidirler. Bu düzenlemeler büyük oranda inici monoaminerjik yolaklar vasıtasıyla 5-HT, NA ve dopaminin etkileriyle gerçekleşmektedir (73). Opioidler, NSAİİ, antidepresanlar, kannabinoidler, nikotinik ve kolinerjik agonistler, plasebo, elektrik uyarıları ve akupunktur benzeri tedaviler inici inhibitör yolakların aktivasyonuyla analjezik etki sağlanmasında rol alan önemli unsurlardır.

Endojen ağrı kontrolünde PAG-RVM-spinal arka boynuz inici inhibitör sistemi önemli rol oynamaktadır (74). PAG; frontal ve insular korteks, amigdala ve hipotalamus'tan aldığı uyarıyı RVM'ye ve alt beyin sapına yöneltir (75). Tsou ve jang (1964) yaptıkları çalışmada tavşan beyninin PAG bölgesine morfin mikro-enjeksiyonu ile güçlü bir analjezi oluşturmuşlardır. Bunu kanıtlayan çok sayıda çalışma vardır. Başka bir çalışmada sıçan beyninin PAG bölgesine elektriksel uyarı verildiğinde sıçanda oluşturulan nosisepsiyonun şiddetinin azalmasını sağlamıştır. RVM; PAG, parabraşiyal çekirdek, traktus solitarius çekirdekleri ve diğer supraspinal alanlardan nosiseptif bilgiyi alır. RVM, yüzeyel ve derin arka boynuz laminalarına inen inhibitör bağlantılar sağlayan çekirdekli heterojen bir bölgedir. Bu bölge on-hücreleri ve off-hücreleri diye adlandırılan iki tip nöron içermektedir. Off-hücreleri, inici inhibisyon

yolaklarının tetiklenmesiyle periferden alınan zararlı uyarıları inhibe eder. On-hücreleri ise off-hücrelerine zıt etkiyle çalışır (76). RVM'den spinal arka boynuza bağlantı yapan bu nöronların yaklaşık %40'ı serotonerjiktir (5). Bu nöronlar ve spinal serotonin reseptörleri RVM ve PAG'nin uyarılmasıyla oluşan antinosiseptif etkiye katkıda bulunur. İnici inhibitör sistemin hem kannabinoidlerin hem de opioidlerin antinosiseptif etkisine rol oynadığı bilinmekte olup (73), bu etkilere özellikle spinal 5-HT reseptörlerinin aracılık ettiği son yıllarda araştırılmakta olan konular arasındadır (5,73,77,78).

Serotonin, periferde ve SSS'de yaygın dağılım gösteren bir monoamin olup nosisepsiyonda önemli rol oynadığı bilinmektedir. Sistemik uygulanması genelde pronosiseptif, spinal uygulanması ise düşük dozda antinosiseptif yüksek dozda yine pronosiseptif etkiler göstermektedir. Serotoninin bu etkilerine aracılık eden 7 reseptör tipi ve alt tipleri şu ana kadar bilinmektedir (6,79). Bu reseptör alt tiplerinden 5-$HT_{5A}$ üzerinde en az çalışma yapılmış olanıdır. Az sayıda yapılmış bu çalışmalarda bu reseptör alt tipinin antinosiseptif etkilere aracılık ettiği gösterilmiştir (7,8). Bir diğer çalışmada ise omurilik arka boynuzun yüzeyel katmanlarında 5-$HT_{5A}$ reseptörünün antinosiseptif etki mekanizmasında önemli rolü olduğu düşünülmüştür (80).

5-$HT_{5A}$ reseptörünün antinosiseptif etkideki rolü az sayıda çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir. Sıçanlarda yapılan bir çalışmada, sıçanların sağ arka ayak pençesinin sırt kısmına %1'lik formalin, %0,1'lik kapsaisin ve i.p. olarak asetik asit ayrı ayrı uygulanarak oluşan nosisepsiyon değerlendirilmiştir. Bu uygulamalardan 10'ar dk önce i.t. olarak serotonin (10-100nmol) ve 5-karboksamidotriptamin (5-CT, 0,03-0,3nmol) artan dozlarında uygulanmıştır. Bu agonistlerin oluşan nosisepsiyonu azalttığı görülmüştür. Daha sonraki gruplara agonist uygulamasından 10 dk önce i.t. olarak 5-$HT_{5A}$ antagonisti SB-699551 (10nmol/rat) uygulanmıştır. Formalin, kapsaisin ve asetik asitin oluşturduğu nosisepsiyonunu engelleyen agonistlerin bu etkilerinin önlendiği görülmüştür. Bu durum spinal 5-$HT_{5A}$ reseptörlerinin antinosisepsiyona etkilerini açıkça ortaya koymaktadır (7). Ek olarak başka bir çalışmada, VLO'ya 5-HT mikro enjeksiyonu sıçanlarda tail flick ve formaline bağlı oluşan nosiseptif davranışı inhibe ettiği gösterilmiştir. Aynı zamanda 5-HT'nin VLO'ya enjeksiyonunun sadece akut ve inflamatuvar ağrıyı değil nöropatik ağrıyı da inhibe ettiği görülmüştür. 5-$HT_{5A}$ selektif antagonisti SB699551'in VLO'ya mikro enjeksiyonu 5-HT'nin oluşturduğu antinosisepsiyonu ortadan kaldırmıştır. Bu antagonist tek başına uygulandığında

herhangi bir etki oluşturmamıştır. SB699551'in VLO kortekse uygulanması spinal sinir hasarı oluşturulan sıçanlarda da serotoninin indüklediği antiallodinik etkiyi engellemiştir (6).

Bir diğer çalışmada ergotamin (5-$HT_{1B/1D}$ ve 5-$HT_{5A/5B}$ agonisti, 15nmol) ve valerenik asit (5-$HT_{5A}$ reseptörü parsiyel agonisti, 1nmol) kullanılarak yapılan bir çalışmada sıçanların arka ayak pençesinin sırt kısmına %1 formalin çözeltisi uygulanmış, bu agonistlerin doza bağlı antinosiseptif etki gösterdikleri bildirilmiştir. Ancak selektif olmayan 5-$HT_{5A/5B}$ antagonisti metiyotepin ve selektif 5-$HT_{5A}$ antagonisti SB-699551'in farklı gruplara i.t. olarak verilerek daha sonra ergotamin ve valerenik asit uygulamaları yapıldığında ise formaline karşı antinosiseptif etkileri doza bağlı olarak azalmıştır (41). Sıçanlarda fluoksetinin i.t. uygulanması ise, ayak pençesine deri altı %0,5 formalin enjeksiyonu ile oluşturulan nosisepsiyonu engellemiştir. İ.t. olarak verilen fluoksetinin bu etkisini i.t. SB-699551 uygulaması engellemiştir. Ancak perifere uygulanan fluoksetin küçük dozlarda pronosiseptif, yüksek dozlarda antinosiseptif etki de göstermiştir. (8). Burada da görüldüğü üzere 5-$HT_{5A}$ reseptörleri antinosiseptif etkide önemli rol oynamaktadır.

5-HT ve 5-CT sıçanların spinal 5-$HT_{1A/1B/1D}$ ve 5-$HT_{5A}$ reseptörlerini aktive ederek nöropatik ağrıyı hafiflettiği gösterilmiştir. İ.t. metiyotepin (5-$HT_1$, 5-$HT_2$, 5-$HT_5$, 5-$HT_6$ ve 5-$HT_7$ reseptör antagonisti; 0,1-0,8nmol) 5-HT ile oluşturulan antiallodinik etkiyi %60 azaltmış, SB-699551 (1-10nmol) ise %25 azaltmıştır. Ancak bu iki antagonist bu çalışmada spinal sinir ligasyonuna bağlı taktil allodiniyi etkilememiştir (43). Yakın zamanda yapılan bir diğer çalışmada *Magnifera indica* bitkisinden izole edilmiş fenolik bir bileşik olan magniferinin, asetik asit, formalin, kapsaisin ve serotoninle oluşturulmuş inflamatuvar ağrıyı azalttığı gösterilmiştir. Spinal hasar oluşturulan sıçanlarda i.t. olarak verilen magniferin antiallodinik etki oluşturmuştur. 5-$HT_{5A}$ reseptör antagonisti SB-699551 i.t. olarak uygulanıp daha sonra i.t. magniferin verildiğinde ise antiallodinik etki oluşturmadığı gözlenmiştir (81). Bu çalışmalar genel olarak 5-$HT_{5A}$ reseptörlerinin antinosiseptif etkiye aracılık ettiğini göstermektedir. Daha önceki yıllarda spinal 5-HT reseptörlerinin nosisepsiyondaki yeri üzerine çok sayıda araştırma yapılmış ve özellikle spinal 5-$HT_1$, 5-$HT_2$, 5-$HT_3$ ve 5-$HT_7$ reseptörlerinin antinosiseptif etkiye aracılık ettiği gösterilmiştir (5,73,82). Bununla birlikte bu reseptörlerin her birinin alt-tiplerinin farklı etkilere neden olabileceği de göz ardı edilmemelidir. Çalışmamızda antinosiseptif etkinlik ortaya çıkarttığı az sayıdaki

araştırma ile gösterilmiş olan 5-$HT_{5A}$ reseptörlerinin kannabinoidlerin ve opioidlerin antinosiseptif etkilerine aracılık ettiği ise ilk kez gösterilmiştir.

Sonuç olarak, araştırmamızda, artan dozlarda kannabinoid reseptör agonisti WIN 55,212-2 ve opioid reseptör agonisti morfin'in i.p. uygulanması farelerde belirgin bir antinosiseptif etkinlik ortaya çıkarttı. Kannabinoid ve opioid agonistinin enjeksiyonundan önce i.t. olarak selektif 5-$HT_{5A}$ reseptör antagonisti SB-699551 uygulandığında ise agonistlerin oluşturduğu antinosisepsiyon büyük ölçüde ortadan kalktı. SB-699551 tek başına i.t. uygulandığında herhangi bir etki oluşturmadı. Elde ettiğimiz bu sonuçlara göre, spinal 5-$HT_{5A}$ reseptörleri gerek kannabinoid agonisti WIN 55,212-2'nin gerekse opioid agonisti morfin'in antinosiseptif etkisine aracılık etmektedir. Analjezik etkinliği büyük önem taşıyan bu iki büyük ilaç grubunun, kannabinoidlerin ve opioidlerin, etki mekanizmalarında henüz aydınlatılmamış olan eksikliklerin bu çalışmadakine benzer şekilde açıklığa kavuşturulmasıyla bu analjezikler çok daha güvenli ve çok daha etkin bir şekilde tedavide kullanılabileceklerdir.

# SONUÇLAR

Kannabinoidlerin ve opioidlerin antinosiseptif etkileri uzun zamandır bilinmektedir. Çalışmamızda “hot plate” ve “tail flick” testleriyle nosiseptif etki oluşturduğumuz farelerde, sistemik olarak uyguladığımız kannabinoid agonisti WIN 55,212-2’nin ve opioid reseptör agonisti morfin’in antinosiseptif etkilerini bir kez daha gördük. Bu agonistlerin oluşturduğu antinosiseptif etkiye hakkında çok az çalışma yapılmış bir serotonin reseptör alt tipi olan spinal 5-$HT_{5A}$ reseptörlerinin katılımını inceledik. Buna ek olarak uyguladığımız agonistlerin farelerde motor koordinasyon fonksiyonlarına etkilerini “rotarod” testi ile değerlendirdik.

WIN 55,212-2 ve morfin doz-bağımlı olarak antinosiseptif etkinlik ortaya çıkarttılar. Kannabinoid ve opioid agonistlerinin enjeksiyonundan 10 dk önce i.t. olarak uyguladığımız selektif 5-$HT_{5A}$ reseptör antagonisti SB-699551, oluşan antinosiseptif etkileri belirgin derecede azalttı. Tek başına i.t. olarak uygulanan SB-699551’in ise herhangi bir etki oluşturmadığı görüldü.

WIN 55,212-2’nin 10 mg/kg dozunda; “rotarod” testinde motor koordinasyon fonksiyonunu bozduğu, morfin’in ise artan dozlarında bu fonksiyonu etkilemediği görüldü.

Elde ettiğimiz sonuçlar WIN 55,212-2 ve morfin’in antinosiseptif etkilerine spinal 5-$HT_{5A}$ reseptörlerinin aracılık ettiğini göstermektedir. Bu sonuçların kannabinoidler ve opioidlerin ağrı tedavisinde daha güvenilir ve daha etkin olarak kullanılmasına katkı sağlayacağını düşüncesindeyiz.

# ÖZET

Kannabinoidlerin ve opioidlerin antinosiseptif etkileri yüzyıllardır bilinmektedir. Serotoninin ve reseptörlerinin de nosisepsiyonda önemli roller oynadığı gösterilmiştir. Buna karşılık, kannabinoidlerin ve opioidlerin antinosiseptif etkilerine spinal 5-$HT_{5A}$ reseptörlerinin katılımı ile ilgili bir çalışma yapılmamıştır. Araştırmamızda kannabinoidlerin ve opioidlerin antinosiseptif etkilerinin henüz tam olarak aydınlatılamamış kısımlarına katkı sağlamak amaçladık. “Hot plate” ve “tail flick” testleriyle nosiseptif ağrı oluşturduğumuz Balb/c farelere kannabinoid agonisti WIN 55,212-2 ile morfin’in i.p. olarak 1, 3, 10 mg/kg dozlarında uygulanması belirgin antinosiseptif etkinlik ortaya çıkarttı. Daha sonra bu agonistlerden 10 dakika önce selektif 5-$HT_{5A}$ reseptör antagonisti olan SB-699551’i (10 nmol/fare) i.t. olarak uygulandı. SB-699551, WIN 55,212-2 ve morfin’in oluşturduğu antinosiseptif etkiyi belirgin şekilde azalttı. Ayrıca, “rotarod” testi ile değerlendirildiğinde WIN 55,212-2 10 mg/kg dozunda farelerin motor koordinasyonlarını bozdu, morfin’in ise artan dozlarında bu fonksiyonu etkilemedi. Bulgularımız WIN 55,212-2 ve morfin’in antinosiseptif etkilerine spinal 5-$HT_{5A}$ reseptörlerinin katılımının olduğunu göstermektedir.

**Anahtar kelimeler: 5-$HT_{5A}$ reseptörü; antinosisepsiyon; morfin; SB-699551; WIN 55,212-2**

# CONTRIBUTION OF SPINAL 5-HT$_{5A}$ RECEPTORS IN THE ANTINOCICEPTIVE EFFECTS OF SYSTEMICALLY ADMINISTERED CANNABINOID AGONIST WIN 55,212-2 AND MORPHINE

## SUMMARY

The antinociceptive effects of cannabinoids and opioids have been known for centuries. Serotonin and its receptors are also known to play important roles in nociception. However, contribution of spinal 5-HT$_{5A}$ receptors in antinociceptive effects of cannabinoids and opioids have not been studied. We conducted this study to clarify mechanisms of actions of the antinociceptive effects of cannabinoids and opioids. WIN 55,212-2, a cannabinoid agonist, and morphine exerted significant antinociceptive effects at 1, 3, and 10 mg / kg doses in Balb/c mice in both hot plate and tail flick tests. Then we administered the selective 5-HT$_{5A}$ receptor antagonist SB-699551 (10 nmol/mouse) intrathecally 10 minutes before the agonists. SB-699551 significantly reduced the antinociceptive effect of both WIN 55,212-2 and morphine. In the rotarod test, WIN 55,212-2 disrupted the motor coordination at the dose of 10 mg/kg, while morphine did not affect this function at any doses. Our findings show that spinal 5-HT$_{5A}$ receptors are involved in the antinociceptive effects of WIN 55,212-2 and morphine.

**Keywords: 5-HT$_{5A}$ reseptörü; antinosisepsiyon; morfin; SB-699551; WIN 55,212-2**

# KAYNAKLAR


1. Özyalçın SN, Koltka K, Uyar M. Akut ağrı genel bilgiler. Özyalçın SN (Editör). Akut ağrı'da. Ankara: Güneş Kitabevi; 2005. s.1-24.

2. Önal A. Ağrı. Önal A (Editör). Algoloji. İstanbul: Nobel Kitabevleri; 2004. s.1-20.

3. Gawel K, Bruzda EG, Dziedzic M, Wojtanowska MJ, Grabska MM, Silberring J et al. Cholinergic activation affects the acute and chronic antinociceptive effects of morphine. Physiol Behav 2017;169:22-32.

4. Maguire DR, France CP. Impact of efficacy at the μ-opioid receptor on antinociceptive effects of combinations of μ-opioid receptor agonists and cannabinoid receptor agonists. J Pharmacol Exp Ther 2014;351(2):383-9.

5. Dogrul A, Seyrek M, Yalcin B, Ulugol A. Involvement of descending serotonergic and noradrenergic pathways in $CB_1$ receptor-mediated antinociception. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry 2012;38(1):97-105.

6. Xu WJ, Zhao Y, Huo FQ, Du JQ, Tang JS. Involvement of ventrolateral orbital cortex 5-$HT_{1-7}$ receptors in 5-HT induced depression of spared nerve injury allodynia. Neuroscience 2013;238:252-7.

7. Munoz-Islas E, Vidal-Cantu GC, Bravo-Hernandez M, Cervantes-Duran C, Quinonez-Bastidas GN, Pineda-Farias JB et. al. Spinal 5-$HT_{5A}$ receptors mediate 5-HT-induced antinociception in several pain models in rats. Pharmacol Biochem Behav 2014;120:25-32.

8. Cervantes-Duran C, Rocha-Gonzalez HI, Granados-Soto V. Peripheral and spinal 5-HT receptors participate in the pronociceptive and antinociceptive effects of fluoxetine in rats. Neuroscience 2013;252:396-409.

9. Harvey RA, Champe PC, Howland RD, Mycek MJ. Opioid analjezikler ve antagonistleri. Onat F, Gören Z, Karaalp A (Çeviri Editörleri). Lippincott's illustrated reviews 3. baskı. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri 2009. s.157-68.

10. Ertekin C. Ağrının nöroanatomisi ve nörofizyolojisi. Yegül İ (Editör). Ağrı ve tedavisi. İzmir: Yapım Matbaacılık; 2003. s.1-13.

11. Steeds CE. The anatomy and physiology of pain. Basic science, surgery 2009; 27:12 p.507-511.

12. Kandel ER, Schwartz JH, Jessell TM, Siegelbaum SA, Hudspeth AJ. Pain. Principles of neural science. 5th ed. New York: Mc Graw Hill Co; 2013. ch. 24. p.530-55.

13. Erdine S. Ağrı mekanizmaları ve ağrıya genel yaklaşım. Erdine S (Editör). Ağrı, 3. basım. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 2007. s.37-48.

14. Stannard C. Ağrının anatomisi ve fizyolojisi. Karacan İ, Özaras N (Çeviri Editörleri). Ağrı'da 1. Basım. İstanbul: İstanbul Tıp Kitabevi; 2007. s.3-13.

15. Harvey RA, Preston RR, Wilson TE. Deri sinirleri. Alkac Üİ, Ermutlu MN, Yılmaz B (Çeviri Editörleri). Lippincott görsel anlatımlı çalışma kitapları fizyoloji. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 2014. ch 16. s.181-5.

16. Raj PP. Ağrı taksonomisi. Erdine S (Editör). Ağrı 3. baskı. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 2007. s.19-26.

17. Institute of Medicine (IOM) of the National Academy of Sciences (NAS). Relieving Pain in America: A Blueprint for Transforming Prevention, Care, Education and Research. Washington, DC: National Academies Press, 2011; p.24-6.

18. Carr DB, Goudas LC. Acute pain. The Lancet. Boston: 1999;353(9169):2051-8.

19. Merskey H, Bogduk N. Classification of chronic pain: description of chronic pain syndromes and definition of pain terms. Report by the IASP task force on taxonomy 2nd ed. Seattle: IASP press 1994.

20. Carr DB, Cousins MJ. Spinal route of analgesics: opioids and future options. In: Cousins MJ, Bridenbaugh PO, eds. Neural blockade in clinical anaesthesia and management of pain, 3rd ed. Philadelphia: Lippincott-Raven, 1998; p.886-947.

21. Squire LR, Bloom FE, Spitzer NC, Lac S, Ghosh A, Berg D. Somatosensory system. Fundamental neuroscience 3rd ed. California: Academic press Elsevier Inc. 2008. ch 25. p.581-607.

22. Ikoma A, Cevikbas F, Kempkes C, Steinhoff M. Anatomy and neurophysiology of pruritus. Semin Cutan Med Surg 2011;30(2):64-70.

23. Strunin L, Postgraduate educational issue: inflammatory and neurogenic pain: new molecules, new mechanisms. Br J Anaesthesiol 1995; 75:123–255.

24. McGlone F, Reilly D. The cutaneous sensory system. Neurosci Biobehav Rev 2010;34(2):59-148.

25. Riley J, Boulis NM. Molecular mechanisms of pain: a basis for chronic pain and therapeutic approaches based on the cell and the gene. Clin Neurosurg 2006;53:77-97.

26. Kayaalp SO. Opioid analjezikler. Kayaalp SO (Editör). Rasyonel tedavi yönünden tıbbi farmakoloji, 13. Basım. Ankara: Pelikan yayıncılık; 2012. cilt 2 s.826-45.

27. Kopf A, Patel NB. Physiology of pain. Guide to pain management in low-resource settings. Seattle: IASP; 2010. ch. 3. p:13-7.

28. Yoshimura M, Furue H. Mechanisms for the anti-nociceptive actions of the descending noradrenergic and serotonergic systems in the spinal cord. J Pharmacol Sci 2006;101(2):107-17.

29. Ishimatsu M, Williams JR. Synchronous activity in locus coeruleus results from dendritic interactions in pericoerulear regions. J Neurosci 1996;16(16):5196–204.

30. Westlund KN, Carlton SM, Zhang D, Willis WD. Direct catecholaminergic innervation of primate spinothalamic tract neurons. J Comp Neurol 1990;299(2):178–86.

31. Westlund KN, Bowker RM, Ziegler MG, Coulter JD. Noradrenergic projections to the spinal cord of the rat. Brain Res 1983;263(1):15–31.

32. Martin GF, Cabana FJ, Ho RH, Humbertson AO. Raphe spinal projections in the North American opossum: evidence for connectional heterogeneity. Journal Comp. Neurol. 1982; (208): s.67–84.

33. Zemlan FP, Behbehani MM, Beckstead RM. Ascending and descending projections from nucleus reticularis magnocellularis and nucleus reticularis gigantocellularis: an autoradiographic and horseradish peroxidase study in the rat. Brain Res 1984;292(2):207–20.

34. Zhao Y, Zhang CE, Kang YM, Qiao JT, Dafny N. Endogenous adenosine involved in the mediation of spinal antinociception produced by stimulating locus coeruleus. Life Sci 1999;65(5):PL67–74.

35. Fields HL, Heinricher MM, Mason P. Neurotransmitters in nociceptive modulatory circuits. Annu Rev Neurosci 1991;14:219–45.

36. Furue H, Narikawa K, Kumamoto E, Yoshimura M. Responsiveness of rat substantia gelatinosa neurones to mechanical but not thermal stimuli revealed by in vivo patch-clamp recording. J Physiol 1999;521:529–35.

37. Furue H, Katafuchi T, Yoshimura M. Sensory processing and functional reorganization of sensory transmission under pathological conditions in the spinal dorsal horn. Neurosci Res 2004;48(4):361–8.

38. Lu Y, Perl ER. Modular organization of excitatory circuits between neurons of the spinal superficial dorsal horn (laminae I and II). J Neurosci 2005;25(15):3900–7.

39. Matayoshi S, Jiang N, Katafuchi T, Koga K, Furue H, Yasaka T, et al. Actions of brain-derived neurotrophic factor on spinal nociceptive transmission during inflammation in the rat. J Physiol 2005;569:685–95.

40. Yoshimura M, Nishi S. Primary afferent-evoked glycine- and GABA-mediated IPSPs in substantia gelatinosa neurones in the rat spinal cord in vitro. J Physiol 1995;482:29–38.

41. Vidal-Cantu GC, Jimenez-Hernandez M, Rocha-Gonzalez HI, Villalon CM, Granados-Soto V, Munoz-Islas E. Role of 5-$HT_{5A}$ and 5-$HT_{1B/1D}$ receptors in the antinociception produced by ergotamine and valerenic acid in the rat formalin test. Eur J Pharmacol 2016;781:109-16.

42. Dogrul A, Seyrek M, Yalcin B, Ulugol A. Involvement of serotonergic system in cannabinoid analgesia. In: Van Bockstaele EJ, editor. Endo-cannabinoid regulation of monoamines in psychiatric and neurological disorders. New York: Springer; 2013: s.277-95.

43. Avila-Rojas SH, Velazquez-Lagunas I, Salinas-Abarca AB, Barragan-Iglesias P, Pineda-Farias JB, Granados-Soto V. Role of spinal 5-$HT_{5A}$ and 5-$HT_{1A/1B/1D}$ recetors in neuropathic pain induced by spinal nerve ligation in rats. Brain Res 2015;1622:377-85.

44. Katzung BG, Masters SB, Trevor AJ (Editörler). Serotonin. Akkan AG, Büyükuysal RL, Erol K, Karadağ ÇH, Ulugöl A, Ulak G ve ark. (Çeviri Editörleri). Temel ve klinik farmakoloji 12. baskı. İstanbul: Nobel kitabevi 2014; bölüm 16. s.281-7.

45. Kayaalp SO. Santral sinir sistemi farmakolojisinin temelleri. Kayaalp SO (Editör). Rasyonel tedavi yönünden tıbbi farmakoloji, 13. Basım. Ankara: Pelikan yayıncılık; 2012. cilt 1 s.651-89.

46. Ulugol A, Topuz RD, Gunduz O, Kizilay G, Karadag HC. Changes in nociceptin/orphanin FQ levels in rat brain regions after acute and chronic cannabinoid treatment in conjunction with the development of antinociceptive tolerance. Fundam Clin Pharmacol 2016;30(6):537-48.

47. Raffa RB, Rawls SM, Beyzarov EP. Analgesics and Anesthetics. Netter's illustrated pharmacology. New Jersey: Icon learning systems LLC; 2005.ch.3. p. 85-9.

48. Scoto G.M., Aridco G., Iemolo A., Ronsisvalle G., Parenti C. Selective inhibition of the NOP receptor in the ventrolateral periaqueductal gray attenuates the development and the expression of tolerance to morphine-induced antinociception in rats. Peptides 2010; 31:696-700.

49. Maguire DR, Yang W, France CP. Interactions between μ-opioid receptor agonists and cannabinoid receptor agonists in rhesus monkeys: antinociception, drug discrimination, and drug self-administration. J Pharmacol Exp Ther 2013;345(3):354-62.

50. Franks LN, Ford BM, Madadi NR, Penthala NR, Crooks PA, Prather PL. Characterization of the intrinsic activity for a novel class of cannabinoid receptor ligands: Indole quinuclidine analogs. Eur J Pharmacol 2014;737:140-8.

51. Grotenhermen F. Pharmacology of cannabinoids. Neuro Endocrinol Lett 2004;25(1-2):14-23.

52. Grotenhermen F. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of cannabinoids. Clin Pharmacokinet 2003;42(4):327-60.

53. Ulugol A. The endocannabinoid system as a potential therapeutic target for pain modulation. Balkan Med J 2014;31(2):115-20.

54. Fine PG, Rosenfeld MJ. The endocannabinoid system, cannabinoids and pain. Rambam Maimonides Med J 2013;4(4):e0022.

55. Niesink RJM, Laar MW. Does cannabidiol protect aganist adverse psychological effects of THC? Front Psychiatry 2013;4:130.

56. Hudson S, Ramsey J. The emergence and analysis of synthetic cannabinoids. Drug Test Anal 2011;3(7-8):466-78.

57. Grotenhermen F, Müller-Vahl K. The therapeutic potential of cannabis and cannabinoids. Dtsch Arztebl Int 2012;109(29-30):495-501.

58. Lee H. Functional activity of the cannabinoid 1 receptor is not affected by opioid antagonists in the rat brain. Korean J Anesthesiol 2013;64(3):257-61.

59. Battista N, Sabatino AD, Tomassol MD, Biancheri P, Rapino C, Giuffrida P, et. al. Altered expression of type-1 and type-2 cannabinoid receptors in celiac disease. PLoS One 2013;8(4):e62078.

60. Uhelski ML, Cain DM, Harding-Rose C, Simone DA. The non-selective cannabinoid receptor agonist WIN 55,212-2 attenuates responses of C-fiber nociceptors in a murine model of cancer pain. Neuroscience 2013;247:84-94.

61. Alphan ET, Yılmaz N. Endokannabinoid sistemin, enerji metabolizması ve obeziteye etkisi. Marmara Med J 2007;20(3):202-14.

62. Russo EB. Cannabinoids in the management of difficult to treat pain. Ther Clin Risk Manag 2008;4(I):245-59.

63. Hylden JLK, Wilcox GL. Intrathecal morphine in mice: a new technique. Eur J Pharmacol 1980;67(2-3):313-6.

64. D'Amour FE, Smith DL. A method for determining loss of pain sensation. J Pharmacol Exp Ther 1941;72:74-9.

65. Woolfe G, MacDonald AD. The evaluation of analgesic action of pethidine hydrochloride. J Pharmacol Exp Ther 1944;80:300-7.

66. Eddy NB, Leimbach D. Synthetic analgesic. II. Diethienybutenyl and dithienylbuthylamines. J Pharmacol Exp Ther 1953;107:385-93.

67. Desroches J, Bouchard JF, Gendron L, Beaulieu P. Involvement of cannabinoid receptors in peripheral and spinal morphine analgesia. Neuroscience 2014;261:23-42.

68. Manzanares J, Julian MD, Carrascosa A. Role of the cannabinoid system in pain control and therapeutic implications for the management of acute and chronic pain episodes. Current Neuropharmacology 2006;4:239-57.

69. Bodnar RJ. Endogenous opiates and behavior:2012. Peptides 2013;50:55-95.

70. Tracey I, Manthy PW. The cerebral signature for pain perception and its modulation. Neuron 2007;55:377-91.

71. Basbaum AI, Fields HL. Endogenous pain control mechanisms: review and hypothesis. Ann Neurol 1978;4:451-62.

72. Gebhart GF. Descending modulation of pain. Neurosci Biobehav Rev 2004; 27:729-37.

73. Millan MJ. Descending control of pain. Prog Neurobiol 2002;66:355-474.

74. Fields HL. Central nervous system mechanism of pain modulation. In: McMahon SB, Koltzenburg M, eds. Wall and Melzack's Textbook of Pain Online. Philadelphia: Elsevier/Churchill Livingstone; 2006:125-42.

75. Mantyh PW. Connections of midbrain periaqueductal gray in the monkey. II. Descending efferent projections. J Neurophysiol 1983;49:582-94.

76. Kwon M, Altin M, Duenas H, Alev L. The role of descending inhibitory pathways on chronic pain modulation and clinical implications. Pain Pract 2014;14:656-67.

77. Seyrek M, Kahraman S, Deveci MS, Yesilyurt O, Dogrul A. Systemic cannabinoids produce $CB_1$-mediated antinociception by activation of descending serotonergic pathways that act upon spinal 5-$HT_7$ and 5-$HT_{2A}$ receptors. Eur J Pharmacol 2010;649:183-94.

78. Yanarates O, Dogrul A, Yildirim V, Sahin A, Sizlan A, Seyrek M, et. al. Spinal 5-$HT_7$ receptors play an important role in the antinociceptive and antihyperalgesic effects of tramadol and its metabolite, o-desmethyltramadol, via activation of descending serotonergic pathways. Anesthesiology 2010; 112:696-710.

79. Nichols DE, Nichols CD. Serotonin receptors. Chem Rev 2008;108:1614-41.

80. Doly S, Fischer J, Brisorgueil MJ, Verge D, Conrath M. 5-$HT_{5A}$ receptor localization in the rat spinal cord suggests a role in nociception and control of pelvic floor musculature. J Comp Neurol 2004;476:316-29.

81. Monteros-Zuniga AE, Izquierdo T, Quinonez-Bastidas GN, Rocha-Gonzalez HI, Godinez-Chaparro B. Anti-allodynic effect of magniferin in neuropathic rats: Involvement of nitric oxide-cyclic GMP-ATP sensitive $K^+$ channels pathway and serotoninergic system. Pharmacol Biochem Behav 2016;(150-1):190-7.

82. Dogrul A, Gul H, Yildiz O, Bilgin F, Guzeldemir E. Cannabinoids block tactile allodynia in diabetic mice without attenuation of its antinociceptive effect. Neurosci Lett 2004;368:82-6.

# ŞEKİLLER LİSTESİ

**Şekil 1.** Morfin'in kimyasal yapısı ..... 19

**Şekil 2.** İntraperitoneal enjeksiyon ..... 26

**Şekil 3.** İntratekal enjeksiyon ..... 27

**Şekil 4.** "Tail flick" cihazı ..... 27

**Şekil 5.** "Hot plate" cihazı ..... 28

**Şekil 6.** "Rotarod" cihazı ..... 28

**Şekil 7.** WIN 55,212-2'nin artan dozlarında oluşturduğu antinosiseptif etki ("hot plate" testinde) ..... 30

**Şekil 8.** WIN 55,212-2'nin artan dozlarında oluşturduğu antinosiseptif etki ("tail flick" testinde) ..... 31

**Şekil 9.** WIN 55,212-2'nin motor koordinasyon üzerine etkisi ("rotarod" testinde)..... 32

**Şekil 10.** WIN 55,212-2'nin 1 mg/kg dozunda oluşturduğu antinosiseptif etkiye spinal 5-$HT_{5A}$ reseptörlerinin katılımı ("hot plate" testinde) ..... 33

**Şekil 11.** WIN 55,212-2'nin 1 mg/kg dozunda oluşturduğu antinosiseptif etkiye spinal 5-$HT_{5A}$ reseptörlerinin katılımı ("tail flick" testinde) ..... 34

**Şekil 12.** WIN 55,212-2'nin 3 mg/kg dozunda oluşturduğu antinosiseptif etkiye spinal 5-$HT_{5A}$ reseptörlerinin katılımı ("hot plate" testinde) ..... 35

**Şekil 13.** WIN 55,212-2'nin 3 mg/kg dozunda oluşturduğu antinosiseptif etkiye spinal 5-$HT_{5A}$ reseptörlerinin katılımı ("tail flick" testinde) ..... 36

**Şekil 14.** WIN 55,212-2'nin 10 mg/kg dozunda oluşturduğu antinosiseptif etkiye spinal 5-$HT_{5A}$ reseptörlerinin katılımı ("hot plate" testinde) ..... 37

**Şekil 15.** WIN 55,212-2'nin 10 mg/kg dozunda oluşturduğu antinosiseptif etkiye spinal 5-$HT_{5A}$ reseptörlerinin katılımı ("tail flick" testinde) ..... 38

**Şekil 16.** Morfin'in artan dozlarında oluşturduğu antinosiseptif etki ("hot plate" testinde) ..... 39

**Şekil 17.** Morfin'in artan dozlarında oluşturduğu antinosiseptif etki ("tail flick" testinde) ..... 40

**Şekil 18.** Morfin'in motor koordinasyon üzerine etkisi ("rotarod" testinde) ..... 41

**Şekil 19.** Morfin'in 1 mg/kg dozunda oluşturduğu antinosiseptif etkiye spinal 5-$HT_{5A}$ reseptörlerinin katılımı ("hot plate" testinde) ..... 42

**Şekil 20.** Morfin'in 1 mg/kg dozunda oluşturduğu antinosiseptif etkiye spinal 5-$HT_{5A}$ reseptörlerinin katılımı ("tail flick" testinde) ..... 43

**Şekil 21.** Morfin'in 3 mg/kg dozunda oluşturduğu antinosiseptif etkiye spinal 5-$HT_{5A}$ reseptörlerinin katılımı ("hot plate" testinde) ..... 44

**Şekil 22.** Morfin'in 3 mg/kg dozunda oluşturduğu antinosiseptif etkiye spinal 5-$HT_{5A}$ reseptörlerinin katılımı ("tail flick" testinde) ..... 45

**Şekil 23.** Morfin'in 10 mg/kg dozunda oluşturduğu antinosiseptif etkiye spinal 5-$HT_{5A}$ reseptörlerinin katılımı ("hot plate" testinde) ..... 46

**Şekil 24.** Morfin'in 10 mg/kg dozunda oluşturduğu antinosiseptif etkiye spinal 5-$HT_{5A}$ reseptörlerinin katılımı ("tail flick" testinde) ..... 47

# ÖZGEÇMİŞ

1989 yılında Elazığ'da doğdum. İlköğretimi Elazığ'da, ortaöğretim ve lise'yi Antalya'da tamamladım. Lisans eğitimimi İzmir Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi'nde tamamlayarak 2013 yılında mezun oldum. Mezun olduğum sene halen bünyesinde bulunduğum Edirne Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'nde göreve başladım. 2014 yılında Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı'nda yüksek lisans programına katıldım.

# EKLER

**Ek 1**

T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu
(Trakya University, Local Ethics Committee of Animal Experiments)

**Oturum Sayısı: 2015/01** **Karar Tarihi: 06.02.2015**

**KARAR NO: 2015.01.07**

Yürütücülüğünü Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi öğretim üyesi Prof. Dr. Ahmet ULUGÖL'ün yaptığı, Yüksek Lisans Öğrencisi Ahmet Göktan AKSU'nun yüksek lisans tezi olarak planlanan TÜHADYEK-2015/07 protokol nolu "**Sistemik uygulanan kannabinoid agonisti WIN 55,212-2 ve morfinin antinosiseptif etkilerinde spinal 5-HT5A reseptörlerinin katılımı**'' başlıklı çalışma görüşüldü. Araştırmanın amaç, yaklaşım, gereç ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmesi sonucunda; Hayvan deneyleri yerel etik kurulu yönergesinde belirtilen ilke ve kurallara uygun bulunarak, çalışmanın yapılabileceğine mevcudun oy birliği ile karar verilmiştir.

Doç. Dr. Enis ULUÇAM
Başkan
Araştırma ile İlişki: ☐ var ☑ yok
Toplantı Katılım: ☑ evet ☐ hayır

Vet. Hekim Ziya ÇUKUR
Vet. Hek. Üye
Araştırma ile İlişki: ☐ var ☒ yok
Toplantı Katılım: ☒ evet ☐ hayır

Yrd. Doç. Dr. Hayati ARDA
Fen Fakültesi Öğretim Üyesi
Araştırma ile İlişki: ☐ var ☒ yok
Toplantı Katılım: ☒ evet ☐ hayır

Hüseyin KOÇ
Sivil Toplum Kuruluşu Üyesi Sivil Üye
Araştırma ile İlişki: ☐ var ☐ yok
Toplantı Katılım: ☐ evet ☐ hayır

Yrd. Doç. Dr. Beytullah ÖZKAN
Fen Fakültesi Öğretim Üyesi
Araştırma ile İlişki: ☐ var ☒ yok
Toplantı Katılım: ☒ evet ☐ hayır

Doç. Dr. Y. Atakan SEZER
Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi
Araştırma ile İlişki: ☐ var ☐ yok
Toplantı Katılım: ☐ evet ☐ hayır

Doç. Dr. Tevfik AKTOZ
Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi
Araştırma ile İlişki: ☐ var ☐ yok
Toplantı Katılım: ☐ evet ☐ hayır

Yrd. Doç. Dr. Hakan GÜRKAN
Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi
Araştırma ile İlişki: ☐ var ☒ yok
Toplantı Katılım: ☒ evet ☐ hayır

ASLI GİBİDİR

Prof.Dr. Nurettin AYDOĞDU
Dekan a.
Dekan Yardımcısı

Osman GÜLTEKİN
Sivil Üye
Araştırma ile İlişki: ☐ var ☐ yok
Toplantı Katılım: ☐ evet ☐ hayır