

T.C.
NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Fizyoloji Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi

**DENEYSEL MORFİN BAĞIMLILIĞI MODELİ OLUŞTURULMUŞ SIÇANLARDA
HİPOKAMPUS VE HİPOTALAMUSTAKİ MELATONİN RESEPTÖRLERİ GEN
İFADE DÜZEYLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Yasin Ali ÇİMEN

Danışman

Dr. Öğr. Üyesi Faik ÖZDENGÜL

Bu araştırma Necmettin Erbakan Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 191318009 proje numarası ile desteklenmiştir.

KONYA-2020

Tez Onay Sayfası

Necmettin Erbakan Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Fizyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Öğrencisi **Yasin Ali ÇİMEN**'nin “**DeneySEL Morfin Bağımlılığı Modeli Oluşturulmuş Sıçanlarda Hipokampus ve Hipotalamustaki Melatonin Reseptörleri Gen İfade Düzeylerinin Araştırılması**” başlıklı tezi tarafımızdan incelenmiş; amaç, kapsam ve kalite yönünden Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

KONYA/30.12.2020

Tez Danışmanı

Dr. Öğr. Üyesi Faik ÖZDENGÜL
Necmettin Erbakan Üniversitesi /Tıp
Fakültesi/Fizyoloji Anabilim Dalı

Üye

Prof. Dr. Selim KUTLU
Necmettin Erbakan Üniversitesi/Tıp
Fakültesi/Fizyoloji Anabilim Dalı

Üye

Prof. Dr. İsmail MERAL
Bezmiâlem Vakıf Üniversitesi/Tıp
Fakültesi/Fizyoloji Anabilim Dalı

Yukarıdaki tez, Necmettin Erbakan Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim

Kurulunun tarih ve sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Kısmet Esra NURULLAHOĞLU ATALIK
Enstitü Müdür

Tez Beyan Sayfası

BEYANAT

Bu tezin tamamının kendi çalışmam olduğunu, planlanmasından yazımına kadar hiçbir aşamasında etik dışı davranışımın olmadığını, tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları kaynaklar listesine aldığımı, tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

10.12.2020

Yasin Ali ÇİMEN



Benzerlik Raporu

Tezin Tam Adı: Deneysel Morfin Bağımlılığı Modeli Oluşturulmuş Sıçanlarda Hipokampus ve Hipotalamustaki Melatonin Reseptörleri Gen İfade Düzeylerinin Araştırılması

Öğrencinin Adı Soyadı: Yasin Ali ÇİMEN

Dosyanın Toplam Sayfa Sayısı: 79 Sayfa

ORJİNALLİK RAPORU			
%6	%3	%2	%3
BENZERLİK ENDEKSİ	İNTERNET KAYNAKLARI	YAYINLAR	ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ
BİRİNCİL KAYNAKLAR			
1	Submitted to Konya Necmettin Erbakan University Öğrenci Ödevi		%1
2	Submitted to Selçuk Üniversitesi Öğrenci Ödevi		%1
3	dspace.marmara.edu.tr İnternet Kaynağı		<%1
4	file.uroturk.org.tr İnternet Kaynağı		<%1
5	dergipark.gov.tr İnternet Kaynağı		<%1
6	www.istanbulsaglik.gov.tr İnternet Kaynağı		<%1
7	www.researchgate.net İnternet Kaynağı		<%1
8	www.mdpi.com		

Danışman Öğretim Üyesi Adı Soyadı: Dr. Öğr. Üyesi Faik ÖZDENGÜL

İmza:

Teşekkür

Fizyoloji alanını sevmemi sağlayan ve bu alanda kendimi geliştirebilmem için elinden gelen her türlü imkânı benim için seferberlik eden her zaman benim için bir hocadan daha fazlası olan değerli Prof. Dr. Selim KUTLU'ya, her türlü desteğini sunan danışmanım Dr. Öğr. Üyesi Faik ÖZDENGÜL'e, her zaman güler yüzlülüğü ve yaşam enerjisiyle bana öneriler sunan Doç. Dr. Işık SOLAK GÖRMÜŞ'e, bildiklerini çekinmeden bir abla edasıyla lisansüstü öğrencilerine aktaran ve emek veren Arş. Gör. Dr. Raviye ÖZCAN ve Öğr. Gör. Hatice SOLAK'a,

Deneylelimin moleküler aşamasının gerçekleştirilmesine yardımcı olan, sayın Prof. Dr. Ercan KURAR ve Arş. Gör. Canan EROĞLU'ya,

Akademik anlamda daima örnek aldığım değerli hocam Prof. Dr. İsmail MERAL'e

Hayattaki her türlü problemin aşılabileceğini, sabır gerekmesi gerektiğini öğreten ve hayatımda bir rehber edindiğim değerli ağabeyim Dr. Öğr. Üyesi İsmail KORUCU'ya,

Beni her zaman destekleyen, güvenen, maddi ve manevi yanımda olan hayatımdaki en önemli iki kadına anneme ve ablama,

Tıp Fakültesi Fizyoloji AD'de sekreter olarak görev yapan Esra ÇETİN SELÇUK'a,

Sağlık Bilimleri Enstitüsü öğrenci işleri biriminde görev yapan ve resmi işlerde bize çok yardımcı olan ekip üyelerine,

Tezimi 191318009 no'lu proje ile destekleyen NEÜ Bilimsel Araştırma Koordinatörlüğü'ne teşekkür ederim.

Yasin Ali ÇİMEN

İÇİNDEKİLER

İç Kapak	i
Tez Onay Sayfası	ii
Tez Beyan Sayfası.....	iii
Benzerlik Raporu	iv
Teşekkür.....	v
İçindekiler	vi
Kısaltmalar ve simgeler listesi	viii
Şekiller listesi.....	xi
Tablolar listesi.....	xii
Resimler listesi.....	xiii
ÖZET	xv
ABSTRACT	xvi
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Opioidler	3
2.1.1. Endojen Opioid Sistem	3
2.1.2. Opioid Reseptör Alt Tipleri, Lokasyonu ve Fonksiyonları.....	5
2.1.3. Opioidlerin Ödül Sistemini Etkileme Mekanizması	7
2.1.4. Morfin	8
2.1.5. Nalokson	12
2.2. Melatonin	12
2.2.1. Melatonin (N-acetyl-5-methoxytryptamine) Molekülü	12
2.2.2. Pineal Bez	13
2.2.3. Melatoninin Fizyolojik Fonksiyonları	13
2.2.4. Melatonin Sentezi	15
2.2.5. Melatonin Reseptörleri.....	16
2.2.6. Hipotalamus	19
2.2.7. Hipokampus	21
2.2.8. Retiküler Talamik Çekirdek.....	22
2.2.9. Striatum ve Melatonin Reseptörleri	23
2.2.10. Melatonin ve Dopamin	23
2.2.11. Bağımlılık ve Melatonin	24
2.3. Ödül Sistemi.....	25
2.3.1. Ödül Sisteminde Yer Alan Yapılar ve Organizasyonu	25

2.4. Dopamin.....	26
2.4.1. Dopamin ve Dopamin Reseptörleri.....	26
2.4.2. Dopamin ve Ödül.....	27
2.4.3. Nükleus Akumbens.....	28
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	30
3.1. Deney Hayvanları	30
3.1.1. Morfin Bağımlılığı ve Morfin Çekilmesi Test Uygulamaları	30
3.1.1.1. Gellert ve Holtzman Skalası	31
3.1.2. Deneyin Sonlandırılması ve Dokuların Toplanması	32
3.1.2.1. Doku Örneklerinden Total RNA İzolasyonu	32
3.1.2.2. Total RNA Örneklerinin Kalite Kontrolü	33
3.1.2.3. Total RNA Örneklerinin GDNA Kontaminasyonunun Temizlenmesi	33
3.1.2.4. Primer Dizaynı	34
3.1.2.5. Reverze Transkriptaz (RT) Reaksiyonu.....	34
3.1.2.6. Gerçek Zamanlı Kantitatif Polimeraz Zincir Reaksiyonu (qRT-PZR)	34
3.2. İstatiksel Metot.....	36
4. BULGULAR.....	37
4.1. Davranış Testleri.....	37
4.1.1. Davranış Testi Bulguları	37
4.1.2. Gen İfadesi ve Kat Artışı Bulguları	43
5. TARTIŞMA.....	51
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	56
7. KAYNAKLAR	57
8. ÖZGEÇMİŞ.....	70
9. EKLER	72
9.1. Etik Kurul Onayı.....	72

KISALTMALAR VE SİMGELER LİSTESİ

4P-PDOT: 4-Phenyl-2 propionamidotetralin

ACh: Asetilkolin

AM: Amigdala

ATG: Otofaki ile İlişkili

cAMP: Siklik Adenozin Monofosfat

CREB: cAMP'ye Duyarlı Element Bağlayıcı Protein

DA: Dopamin

DAG: Diaçilgliserol

DDA: 2',5'-dihidroksi adenozin

DG: Dentat Girus

DOPA: L-3,4-dihidroksifenilalanin

DOPAC: 3,4-dihidroksi fenilasetik asit

DOR: Delta Opioit Reseptörü

DYN: Dinorfin

ERK: Mitojenle Aktifleştirilmiş Protein Kinaz Yolağı

FSH: Follikül Stimulan Hormon

FSIS: Fast Spiking İnternöronları

GABA: Gama Aminobütirik Asit

GMP: Guanozin Monofosfat

GnRH: Gonadotropin Salıverici Hormon

GPBR: G-proteine bağlı reseptörler

GPR50: G protein reseptörü 50

GRK: G Proteinine Bağlı Reseptör Kinaz

GTP: Guanosin-5'-trifosfat

HIOMT: Hidroksiindol-O-Metiltransferaz

HP: Hipotalamus

HTP: Hidroksitriptofan

IK7: N-Butanol 2-(9-metoksi-6H-iso-indolo[2,1-a]indol-11-yl)-etan-amin

IP3: İnositol 1,4,5-trisfosfat

KOR: Kappa Opioid Reseptörü

LH: Lüteinleştirici Hormon

MAP: Mitojenle Aktifleştirilmiş Protein

MOR: Mü Opioid Reseptörü

MSN: Medium Spiny Nöronları

MSS: Merkezi Sinir Sistemi

NA: Noradrenalin

NAC: Nükleus Akumbens

NAT: N-Asetil Transferaz

NLRP3: Kriyopirin Kodlayan Gen

NO: Nitrik Oksit

NOR: Nosiseptin Orfanin Reseptörü

NREM: Hızlı Göz Hareketlerinin Olmadığı Uyku

PER1: Clock' Gen Ritmi

PFC: Prefrontal Korteks

PIP2: Fosfatidilinositol 4,5-bifosfat

PKA: Protein Kinaz A

PLC: Fosfolipaz C

PVN: Paraventriküler Çekirdek

ROS: Reaktif Oksijen Türleri

RT-PCR: Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu

RVM: Rostroventral Medulla

SAC: Çözünür Adenil Siklaz

SCG: Süperior Servikal Gangliyon

SCN: Suprachiasmatic Çekirdek

SF: Serum Fizyolojik

SON: Supraoptik Çekirdek

TH: Tirozin Hidroksilaz

VTA: Ventral Tegmental Alan

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1. Morfinin ödül sistemi üzerindeki etki mekanizması. 9

Şekil 2.2. Morfinin moleküler etkilerinin şekil olarak gösterimi..... 10

Şekil 3.1. Hipokampus ve hipotalamus dokularına ait örnek jel elektroforezi..... 33

Şekil 3.2. Çalışmada kullanılan genlere ait qRT-PZR ürünlerinin jel görüntüsü. M; 100 bç DNA markörü..... 35

Şekil 3.3. Mtnr1a (A), Mtnr1b (B), Mtnr1a/MT1 (C), PGK1 (D), RPL13A (E) ve GAPDH (F) genlere ait melting curve analiz eğrileri. 35



TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 2. 1. Opioid reseptörleri ve işlevleri.....	5
Tablo 3. 1. Gellert ve Holtzman Skalası.....	32
Tablo 3. 2. qPZR analizlerinde kullanılan genlerin primer dizileri.....	34
Tablo 4. 1. Ön çalışma deneyleri sonunda elde edilen morfin yoksunluk bulguları (Ortalama \pm standart hata değerleri).	43



RESİMLER LİSTESİ

Resim 4. 1. Kontrol (K), morfin (M) ve morfin + nalokson (M+N) gruplarındaki silkelene sayıları.....	37
Resim 4. 2. Kontrol (K), morfin (M) ve morfin + nalokson (M+N) gruplarındaki sıçrama sayıları.....	37
Resim 4. 3. Kontrol (K), morfin (M) ve morfin + nalokson (M+N) gruplarındaki şahlanma sayıları.....	38
Resim 4. 4. Kontrol (K), morfin (M) ve morfin + nalokson (M+N) gruplarındaki süslenme sayıları.....	38
Resim 4. 5. Kontrol (K), morfin (M) ve morfin + nalokson (M+N) gruplarındaki defekasyon sayıları.....	39
Resim 4. 6. Kontrol (K), morfin (M) ve morfin + nalokson (M+N) gruplarındaki anormal postur sayıları.....	39
Resim 4. 7. Kontrol (K), morfin (M) ve morfin + nalokson (M+N) gruplarındaki gözlerini kısma sayıları.....	40
Resim 4. 8. Kontrol (K), morfin (M) ve morfin + nalokson (M+N) gruplarındaki dış çıtırdatma sayıları.....	40
Resim 4. 9. Kontrol (K), morfin (M) ve morfin + nalokson (M+N) gruplarındaki tıksırma sayıları.....	41
Resim 4. 10. Kontrol (K), morfin (M) ve morfin + nalokson (M+N) gruplarındaki yuvarlanma sayıları.....	41
Resim 4. 11. Kontrol (K), morfin (M) ve morfin + nalokson (M+N) gruplarındaki ağırlık kaybı % sayıları.....	42
Resim 4. 12. Kontrol (K), morfin (M) ve morfin + nalokson (M+N) gruplarındaki yoksunluk skor sayıları.....	42
Resim 4. 13. Kontrol (K), morfin (M) ve morfin + nalokson (M+N) gruplarına ait hipokampus dokularında MT1 gen ekspresyon düzeyleri.....	43
Resim 4. 14. Kontrol (K), morfin (M) ve morfin + nalokson (M+N) gruplarına ait hipokampus dokularında MT2 ekspresyon düzeyleri.....	44
Resim 4. 15. Kontrol (K), morfin (M) ve morfin + nalokson (M+N) gruplarına ait hipokampus dokularında MT1/MT2 heteromer ekspresyon düzeyleri.....	44
Resim 4. 16. Kontrol (K), morfin (M) ve morfin + nalokson (M+N) gruplarına ait hipokampus dokularında MT1 ekspresyon düzeylerinin karşılaştırılması.....	45

Resim 4. 17. Kontrol (K), morfin (M) ve morfin + nalokson (M+N) gruplarına ait hipokampus dokularında MT2 ekspresyon düzeylerinin karşılaştırılması.	46
Resim 4. 18. Kontrol (K), morfin (M) ve morfin + nalokson (M+N) gruplarına ait hipokampus dokularında MT1/MT2 heteromer ekspresyon düzeylerinin karşılaştırılması.	46
Resim 4. 19. Kontrol (K), morfin (M) ve morfin + nalokson (M+N) gruplarına ait hipotalamus dokularında MT1 ekspresyon düzeyleri.	47
Resim 4. 20: Kontrol (K), morfin (M) ve morfin + nalokson (M+N) gruplarına ait hipotalamus dokularında MT2 ekspresyon düzeyleri.	47
Resim 4. 21. Kontrol (K), morfin (M) ve morfin + nalokson (M+N) gruplarına ait hipotalamus dokularında MT1/MT2 heteromer ekspresyon düzeyleri.	48
Resim 4. 22. Kontrol (K), morfine (M) ve morfin + nalokson (M+N) gruplarına ait hipotalamus dokularında MT1 ekspresyon düzeylerinin karşılaştırılması.	48
Resim 4. 23. Kontrol (K), morfine (M) ve morfin + nalokson (M+N) gruplarına ait hipotalamus dokularında MT2 ekspresyon düzeylerinin karşılaştırılması.	49
Resim 4. 24. Kontrol (K), morfine (M) ve morfin + nalokson (M+N) gruplarına ait hipotalamus dokularında MT1/MT2 heteromer ekspresyon düzeylerinin karşılaştırılması.	49

ÖZET

T.C.

NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Deneysel Morfin Bağımlılığı Modeli Oluşturulmuş Sıçanlarda Hipokampus ve Hipotalamustaki Melatonin Reseptörleri Gen İfade Düzeylerinin Araştırılması

Yasin Ali ÇİMEN

Fizyoloji Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi / KONYA 2020

Melatonin, iki farklı G proteinine bağlı membran reseptörü olan MT1 ve MT2 aracılığıyla birçok fizyolojik etkisini gösterir. Ek olarak, son çalışmalar bu reseptörlerin MT1/MT2 heteromer oluşumunu ortaya koymaktadır. Bu çalışmanın amacı, sıçan hipokampusu ve hipotalamusta morfin bağımlılığı ve morfin yoksunluğu durumunda bu melatonin reseptörlerinin gen ekspresyon düzeylerini araştırmaktır.

Bu çalışmada 300-350 gr ağırlığında 36 adet Wistar ırkı erkek sıçanlar kullanıldı. Hayvanlar 12'şerli olarak 3 gruba ayrıldı. Kontrol grubuna serum fizyolojik, morfin ve morfin + nalokson gruplarına 10 mg/kg/gün morfin sülfat 6 gün boyunca deri altı yolla uygulandı. 7. gün kontrol ve morfin gruplarına serum fizyolojik, morfin + nalokson grubuna ise 1 mg/kg nalokson periton içi yolla enjekte edildi ve 30 dakika süreyle davranış parametreleri belirlendi. Tüm sıçanların hipokampus ve hipotalamus dokularındaki melatonin reseptörleri gen ekspresyon seviyeleri kantitatif RT-PCR ile analiz edildi. İstatistiksel değerlendirmelerde yönlü ANOVA kullanıldı.

Deney hayvanlarına nalokson uygulanması sonucunda hayvanlarda belirgin şekilde morfin çekilme davranış bulguları saptandı. Hipokampus dokusunda melatonin reseptörlerinin gen ifadesi seviyelerinde gruplar arasında anlamlı bir fark yoktu. Hipotalamusta MT1 reseptör gen ifadesi, kontrol grubuna göre bağımlılık ve nalokson grubunda anlamlı olarak yüksek bulundu ($p < 0.05$). Benzer şekilde, bağımlılık ve nalokson grubunda kontrol grubuna göre MT1/MT2 heteromer reseptör ifadesinde artmış olarak dedekte edildi ($p < 0.05$). Hipotalamustaki MT2 reseptör ifade seviyeleri arasında anlamlı bir fark yoktu.

Morfin çekilme grubu bulguları göz önüne alındığında, bir haftalık morfin uygulanmasıyla sıçanlarda belirgin olarak bağımlılık olduğu gözlenmiştir. Hipotalamusta melatonin gen ifade seviyelerinin artması, morfin bağımlılığında hipotalamusun melatoninerjik etkiye daha duyarlı hale gelebileceğini düşündürmektedir.

Anahtar Kelimeler: Hipokampus, hipotalamus, melatonin reseptörleri, morfin bağımlılığı, nalokson.

ABSTRACT

REPUBLIC OF TURKEY

NECMETTIN ERBAKAN UNIVERSITY

HEALTH SCIENCES INSTITUTE

Investigation of Melatonin Receptors Gene Expression Levels in the Hippocampus and Hypothalamus in Rats with an Experimental Morphine Dependence Model

Yasin Ali ÇİMEN

Department of Physiology

Master Thesis / KONYA 2020

Melatonin exerts many physiological effects via two different G protein-coupled membrane receptors, MT1 and MT2. Additionally, recent studies also reveal MT1/MT2 heteromer formation of these receptors. The aim of this study was to investigate gene expression levels of these melatonin receptors in morphine dependence and morphine withdrawal condition in rat hippocampus and hypothalamus.

In this study, 36 male Wistar rats weighing 300-350 g were used. The animals were divided into 3 groups of 12. In the control group, saline, morphine and morphine + naloxone groups were administered subcutaneously 10 mg/kg/day morphine sulfate for 6 days. On the 7th day, saline was injected intraperitoneally to the control and morphine groups, and 1 mg / kg naloxone to the morphine + naloxone group intraperitoneally and behavioral parameters were determined for 30 minutes. Melatonin receptors gene expression levels in hippocampus and hypothalamus tissues of all rats were analyzed by quantitative RT-PCR. Directional ANOVA was used for statistical evaluations.

As a result of naloxone administration to experimental animals, significant morphine withdrawal behavior findings were detected in animals. There was no significant difference between the groups in gene expression levels of melatonin receptors in the hippocampus tissue. MT1 receptor gene expression in the hypothalamus was significantly higher in the addiction and naloxone groups compared to the control group ($p < 0.05$). Similarly, an increased MT1/MT2 heteromer receptor expression was detected in the addiction and naloxone group compared to the control group ($p < 0.05$). There was no significant difference between MT2 receptor expression levels in the hypothalamus.

Considering the morphine withdrawal group findings, a significant dependence was observed in rats after administration of morphine for one week. Increased melatonin gene expression levels in the hypothalamus suggest that the hypothalamus may become more sensitive to melatonergic effect in morphine addiction.

Key words: Hippocampus, hypothalamus, melatonin receptors, morphine dependency, naloxone.

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Son yıllarda hızla değişen teknolojik gelişmeler, nüfus artışı, yaşam koşullarının zorlaşması, çalışma ortamı ve insanlar arasındaki ilişkilerdeki bozulma sonucu içe kapanma gibi birçok psikolojik problemlerin de sebebini oluşturmaktadır. İnsanlar toplum içinde olmaktan keyif almak ve sosyalleşmek yerine bireysel aktiviteleri tercih etmeye başlamaktadırlar. Bunun sonucunda ise toplumdan dışlanma, mutsuzluk ve hayattan keyif alamama gibi duygusal semptomlar gözlemlenmektedir. Bu bağlamda insanlar bağımlılık yapıcı maddelere yönelmekte ve bu maddeleri keyif alma ve mutsuzluktan kaçış aracı olarak görmektedirler. İnsanlarda bağımlılıkla ilgili durumları araştırmak için deney hayvanları üzerinde birçok çalışmalar yapılmakta ve kurgulanan modeller deney hayvanlarına uygulanarak fizyopatolojik süreçler ve olası tedavi seçeneklerine yönelik bulgular elde edilmektedir.

Opioidler şiddetli ağrıların kontrolünde en etkili ilaçlardır, ancak tekrarlayan kullanımlarında bağımlılığın gelişmesine neden olmaktadır (Hassanipour ve ark. 2016). Bağımlılık, bir maddeye duyulan önlenemez özlem olarak tanımlanabilir. Morfin gibi opiyatların klinik kullanımı, tolerans ve hiperaljezinin de hızla gelişmesine sebep olduğu için kanser ağrısı ve nöropatik ağrı gibi kronik ağrıların yönetiminde kullanılması dikkat gerektirmekte ve sınırlandırılmaktadır. Morfin toleransı, benzer keyif duygusunun kişi tarafından algılanabilmesi için daha fazla madde tüketimine ihtiyaç duyulması ve mevcut olan dozun zamanla artırılması durumudur (Nakamoto ve ark. 2012).

Melatonin pineal bezden salgılanan ve organizmada birçok fizyolojik etkilere sahip bir hormondur. Ayrıca beyinde de birçok etkiler oluşturmaktadır. Melatonin özellikle aydınlık-karanlık döngüsüne bağlı olarak gece sentezlenmektedir (Waldhauser ve Ditzel 1985). En önemli bilinen etkisi sirkadiyen ritmi düzenlemesi ve antioksidan özelliğidir. Melatonin etkisini MT1, MT2 ve son yıllarda varlığı belirlenen MT1/MT2 heteromer membran reseptörleri aracılığıyla göstermektedir (Savaskan ve ark. 2002). Melatoninin, morfin bağımlılık modeli uygulanmış deney hayvanları üzerindeki etkisi birçok çalışmada araştırılmıştır. Melatoninin, morfin toleransını azaltıcı ve tersine çevirici birçok etkisi gösterilmiş olmasına rağmen var olan mekanizmanın altında yatan sebepler kesin olarak belirlenememiştir. Bu nedenle

melatoninin morfin bağımlılığı üzerine etkilerini ve mekanizmalarını anlamak için daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır.

Hipokampus, hafıza ve karar verme ile ilişkili olup limbik sistemin bir parçasıdır. Hipokampusta MT1 ve MT2 melatonin reseptörlerinin varlığı gösterilmiştir (Savaskan ve ark. 2005).

Hipotalamus endokrin sistem, otonom sinir sistemi ve vejetatif fonksiyonlar gibi vücudun temel işlevlerini kontrol eden bir yapıdır. Hipotalamusta melatonin reseptörlerinin varlığı birçok çalışmada belirlenmiştir (Wu ve ark. 2013).

Bu tez çalışmasında morfin bağımlılık modeli oluşturulmuş sıçanlarda hipokampus ve hipotalamustaki melatonin reseptörleri gen ifade düzeylerinin araştırılması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Opioidler

Opioid maddelerin kullanımını bağımlılığa sebep olabilmektedir. Geçmiş yıllarda yapılan bir çalışmaya göre 2013 yılında toplam 246 milyon kişinin veya 15 ile 64 yaş arasındaki yirmi kişiden birinin yasadışı uyuşturucu kullandığı tahmin edilmektedir (Unodc 2016).

Opioidler doğal, sentetik ve yarı sentetik olmak üzere farmakolojik olarak üç grupta yer alırlar.

Doğal opioidler: Fenantren türevleri (morfin, kodein) ve benzilizokinolin türevleri (papaverin) olmak üzere ikiye ayrılırlar.

Sentetik opioidler: Morfinan türevleri (levorfanol), difenilpropilamin veya metadon türevleri (metadon, d-propoksifen gibi), benzomorfan türevleri (pentazosin, fenazosin), fenilpiperidin türevleri (fentanil, sulfentanil, meperidin) olmak üzere 4'e ayrılırlar.

Yarı sentetik opioidler: Eroin, dihidromorfon/morfinon, hidrokodon, oksikodon, oksimorfon ve etorfin bu gruptadır (Schiff 2002).

2.1.1. Endojen Opioid Sistem

Opioidler, ağrı ile ilişkili rahatsızlıkların tedavisinde kullanılan güçlü analjeziklerdir. Opiyatlar, analjezi amacıyla uzun yıllar boyunca kullanılmışlardır ve günümüzde kullanılmaya devam edilmektedirler. Son yıllarda farmakolojik çalışmaların da gelişmesi ve hızlanmasıyla opioidlerden elde edilen opiyatların elde edilmesinde önemli ilerlemeler sağlanmıştır. Opioidler ağrının yanı sıra, ishal, öksürük, ameliyat sonrası ağrı gibi birçok rahatsızlığın tedavisinde sık sık kullanılmaktadırlar (Al-Hasani ve Bruchas 2011). Opioid maddelerin solunum sayısında azalma, sedasyon, kusma, öfori ya da disfori, gastrointestinal sistemde motilite seviyesinin azalması ve kaşıntı gibi bazı yan etkileri bulunmaktadır (Sora ve ark. 1997).

Opioidlerin inhibisyon etkilerinde üç temel mekanizma mevcuttur: Bu mekanizmalar adenilat siklaz inhibisyonu, hücreye Ca^{+2} girişi azaltılması ve G_i proteini vasıtasıyla hücre dışına K^+ iyonlarının difüzyonudur.

Opioit reseptörleri G proteini eşlenik reseptörlerdir. İnsan vücudunun hormonlara, nörotransmitterlere ve ilaçlara verdiği tepkiye aracılık ederler ve duyuşsal algı, tat ve koku algısında görev alırlar (Rosenbaum ve ark. 2009). Tüm G proteini bağılı reseptörler (GPBR) hücre içi G proteinlerine bağılanan yedi adet transmembran kapsayan protein içerirler. Hücre içi aktive edilen sinyal yollarına bağılı olarak farklılaşan reseptörlere eşlenik durumda yer alan farklı G protein tipleri vardır.

G_s protein bağılı reseptörler adenilat siklaz enzimini aktive ederek siklik adozin monofosfat (cAMP) yapımını artırırklar. cAMP molekülü sonunda aktivasyon/inhibisyon ile sonuçlanan çok sayıda proteinin, iyon kanalının ve enzimlerin fosforilasyonundan sorumlu olan Protein Kinaz A'yı (PKA) aktive etmektedir (Al-Hasani ve Bruchas 2011).

Bazı hedef hücrelerde cAMP'nin aktivasyonu G_i adlı bir G proteini alt ünitesi tarafından inhibe edilebilir. Opioit agonistinin, reseptörün hücre dışı N-terminal alanına bağılanmasıdan sonra reseptörün hücre içindeki C-terminal tarafında bulunan G alfa alt ünitesi guanosin-5'-trifosfat (GTP)'ye bağılanır. Bu bağılanma ile alfa ünitesi, G proteinin alt üniteleri olan beta ve gama alt ünitelerinden ayrılır. Bu sırada beta ve gama alt üniteleri farklı efektör moleküllerle etkileşime girebilir. Bu etkileşim GTP'ye bağılı alfa alt ünitesinin hidrolize olmasına kadar devam edebilmektedir. Adenilat siklazın G α_i tarafından inhibe edilmesi, cAMP üretimini önlemektedir (Al-Hasani ve Bruchas 2011). cAMP üretiminin önlenmesi nöronal sinapslarda presinaptik ya da postsinaptik kavşaklarda inhibe ve aktive edici etki oluşturabilmektedir (Yudin ve Rohacs 2018). Ligantın reseptörden ayrılması sonucu alfa ünitesi GTP'den ayrılınca tekrar beta ve gama alt üniteleriyle birleşir.

N tipli voltaj kapılı Ca⁺² kanalları, opioit agonistleri tarafından uyarıldığında, G_i eşlenik reseptörün G beta ve gama alt birimlerinin önemli hedefleridirler. Bu kanallar, merkezi ve periferik sinir sistemi boyunca nöronların presinaptik bölgesinde bulunmaktadırlar ve sinaptik yarığa nörotransmitter salınımına neden olan presinaptik nöronun içine kalsiyum akışına neden olurlar. G proteini beta ve gama alt ünitelerinin N tipi Ca⁺² kanalları ile etkileşimi inhibisyon ile sonuçlanır ve Ca⁺² akışının bloklanması ile presinaptik uçtan nörotransmitter salınımı bloke olmuş olur (Mochida 2018). Opioit sistem bazı işlevlerde rol oynamaktadır. Bunlardan bazıları stres faktörlerine ve ağırlı uyanarlara nosiseptif yanıtın düzenlenmesi, ödöl sistemi, su ve

besin alımı yanında sıcaklığın regülasyonu gibi homeostatik düzenlenmelerdir. Bu tezde ödül sistemi ilişki bağımlılık süreçleriyle melatonin ve melatonin reseptörleri arasındaki etkileşim üzerinde durulmuştur.

2.1.2. Opioit Reseptör Alt Tipleri, Lokasyonu ve Fonksiyonları

Bugüne kadar 4 farklı opioit reseptör tipi tanımlanmıştır. Bunlar mü (μ), delta (δ), kappa (κ), nosiseptin/orfanin FQ reseptörleri (NOR/ORL1)'dir. Bu tanımlamada moleküler, hücresel, genetik ve farmakolojik özellikler dikkate alınmıştır (Dhawan ve ark. 1996; Ozdemir 2017).

Opioit reseptörleri şu alt tiplere ayrılır: μ (μ_1, μ_2, μ_3); δ ($\delta_1, \delta_2, \delta_3$); ve κ ($\kappa_1, \kappa_2, \kappa_3$) (Waldhoer ve ark. 2004; Bodnar 2016). Opioit reseptörlerinin sinir sisteminde bulunduğu alanlar ile ilgili bilgiler eski yıllara dayanmaktadır (Pert ve Snyder 1973). Opioit reseptör alt tiplerinin talamus, pons, omuriliğin arka boynuzu, periaqueductal gri alan, rostroventral medulla (RVM), ventral tegmental alan (VTA), korteks, globus pallidus, hipokampus, amigdala, ventral pallidum, rafe nükleus ve diğer bazı beyin bölgelerinde bulunduğu belirlenmiştir (Pert ve Snyder 1973; Wittert ve ark. 1996).

2.1.2.1. Opioit Reseptörleri

Tablo 2. 1. Opioit reseptörleri ve işlevleri.

Reseptörler	Alt Tipleri	Konumları	İşlevleri
Mü, MOR	Mü1, Mü2, Mü3	Korteks Talamus PAG Omurilik Periferik duyu nöronları İntestinal yol	Analjezi İntestinal motilite Solunum depresyonu Fiziksel bağımlılık Öfori Miyozis
Delta, DOR	DOR1, DOR2	Pontin nükleus Amigdala Olfaktor bulbus Periferik duyu nöronları	Vazodilatasyon Analjezi Konvulsan etkiler Antidepresan etkiler
Kappa, KOR	KOR1, KOR2, KOR3	Beyin Hipotalamus PAG Omurilik Periferik duyu nöronları	Analjezi Depresyon Disfori Miyozis Nöroproteksiyon
Nosiseptin Reseptör, NOR	NOR1	Korteks Hipokampus Amigdala Hipotalamus Omurilik	Sedasyon Stres İştah Anksiyete Depresyon

Opioit reseptörleri, alt tipleri, konumları ve işlevleri tabloda gösterilmiştir (Pert ve Snyder 1973; Xia ve Haddad 1991; Wittert ve ark. 1996; Wadenberg 2003; Chiou ve ark. 2006; Peng ve ark. 2012; Pasternak 2014; Toll ve ark. 2016; Özsoy, 2019).

2.1.2.1.1. Mü Opioid Reseptörleri

Liretatürde opioidlerin terapötik ve yan etkileri ile bağlantılı olarak primer medyatör olan mü opioid reseptörleri (MOR) tanımlanmıştır. Morfin ve endorfinler bu reseptörlere yüksek bağlanma özelliği göstermektedirler (Jankovic 1994). MOR reseptörü mü1, mü2 ve mü3 adlı üç reseptör alt tip biriminden oluşmaktadır. MOR amigdala, serebral korteks, periaquaduktal gri madde (PAG) ve kaudat putamende yoğun olarak bulunmaktadır. MOR medulla spinalisin arka boynuzundaki primer afferent nöronlar üzerinde presinaptik terminallerde bulunmakta ve A δ ve C liflerinden gelen ağrı uyarılarının taşınmasını önlemektedir (Pasternak 2014). MOR agonistleri, ağrı giderici özelliğe sahip oldukları için klinik olarak önemlidirler. Ancak ağrıyı engelleyici etkilere tolerans, bağımlılık, kabızlık, solunumun bastırılması ve kötüye kullanma gibi zararlı etkileri genellikle ölüm de dahil olmak üzere ciddi tıbbi komplikasyonlara yol açabilmektedirler (Pasternak 2018). MOR'lar, ayrıca termoregülasyon, kalp, vasküler sistem, gastrointestinal sistem, bağışıklık sistemi ve endokrin sistem üzerinde de etki göstermektedirler (Feng ve ark. 2012).

2.1.2.1.1.1. Mü Opioid Reseptörlerinin Diğer Etkileri

2.1.2.1.1.1.1. Strese Olan Etkisi

MOR'lar lokus seruleustan norepinefrinin salgılanmasının engellenmesi yoluyla merkezi stres tepkisinin azaltılmasında önemli bir rol oynamaktadırlar. MOR, hipotalamusun paraventriküler nükleusundan kortikotropin salgılatıcı hormonun salgılanmasını azaltıcı etkisi ile norepinefrin salgılanmasını baskılar ve böylece stres azaltılmış olur. Bu nedenle MOR'ların, morfinin yararlı etkilerinin gösterildiği çalışmalara dayanarak, travma sonrası stres bozukluğu gelişme riskinin azaltılmasında önemli bir yeri olduğu bildirilmiştir (Toubia ve Khalife 2019).

2.1.2.1.1.1.2. Ruh Hali ve Ödül Sistemine Olan Etkisi

Limbik sistemde MOR yoğunluğunun fazla olması ile ruh hali düzenlenmektedir ve bu reseptörler anksiyete ve depresyon gibi ruhsal hastalıkların tedavisinde kullanılma potansiyeline sahiptirler. Beynin ödül merkezi, mezolimbik dopamin sisteminde yer alan ventral striatuma projeksiyon gönderen VTA'dan oluşmaktadır. MOR stimülasyonu, gama aminobütirik asit (GABA) salgılanmasının

inhibisyonu yoluyla dopamin salınımına yol açmaktadır. Dopamin, opioitlerin ürettiği ödüllendirici etkilerden sorumludur (Al-Hasani ve Bruchas 2011).

2.1.2.1.2. Kappa Opioit Reseptörleri

Bu reseptörler dinorfinler ile aktive olmaktadır. Kappa opioit reseptörleri (KOR, κ_1 , κ_2 , κ_3), klonlanan opioit reseptörlerin ikincisidir. Ağrı algısı, ağrı farkındalığı, ruh hali ve motor kontrol üzerine etkileri mevcuttur. Kappa reseptörleri dinorfinler tarafından uyarılırlar ve morfinin bu reseptörlerle bağlanması ile delta reseptörlerde olduğu gibi spinal düzeyde analjezik etki göstermektedirler. Dinorfin, κ reseptörlere bağlanarak postgangliyonik nöronal uçtan asetilkolin (ACh) salgılanmasını inhibe etmektedirler (Baser ve ark. 2020). KOR agonistleri kronik ve şiddetli ağrı tedavisinde kullanılırlar. Disfori, sedasyon ve diürez gibi bazı yan etkilere neden oldukları bildirilmiştir (Wadenberg 2003).

2.1.2.1.3. Delta Opioit Reseptörleri

Enkefalinler ile aktive olurlar ve agonistlerin bu reseptörlere bağlanmasıyla spinal seviyede analjezik etki göstermektedirler. Limbik sistemde (Topkara ve ark. 2013), korteks ve bazal gangliyonlarda fazla miktarda bulunmaktadır (Xia ve Haddad 1991; Peng ve ark. 2012). Delta opioit reseptörleri (DOR); δ_1 (δ_{nex}) ve δ_2 (δ_{ex}) olmak üzere 2 alt gruba ayrılmaktadır (Gendron ve ark. 2016). Kültürle çoğaltılmış kortikal nöronlarda, DOR aktivasyonu glutamat kaynaklı nörotoksisiteyi önemli ölçüde azaltmakta (Zhang ve ark. 2000) ve hipoksik hasarı hafifletmektedir (Lunzer ve Portoghese 2007).

2.1.2.1.4. Nosisepin Orfanin FQ Reseptörleri

Bu reseptörler 1990'lı yıllarda tanımlanmış opioit reseptörleridirler. Bir dopamin agonisti olarak görev alırlar. Beslenme, kardiyovasküler sistem, öğrenme, bellek, ağrı iletilmesi, hafıza, epilepsi/nöbetler, motor aktivite, üriner inkontinans, öksürük, depresyon, anksiyete, ilaç bağımlılığı ve stres düzenlenmesi gibi bilişsel düzeydeki aktivitelerde görev almaktadırlar (Chiou ve ark. 2006; Toll ve ark. 2016).

2.1.3. Opioitlerin Ödül Sistemini Etkileme Mekanizması

Genellikle opioitler de dahil olmak üzere bağımlılık yapan maddelerin ödül sistemini etkilemesi VTA ya da nükleus akumbens gibi mezolimbik yolakta bulunan

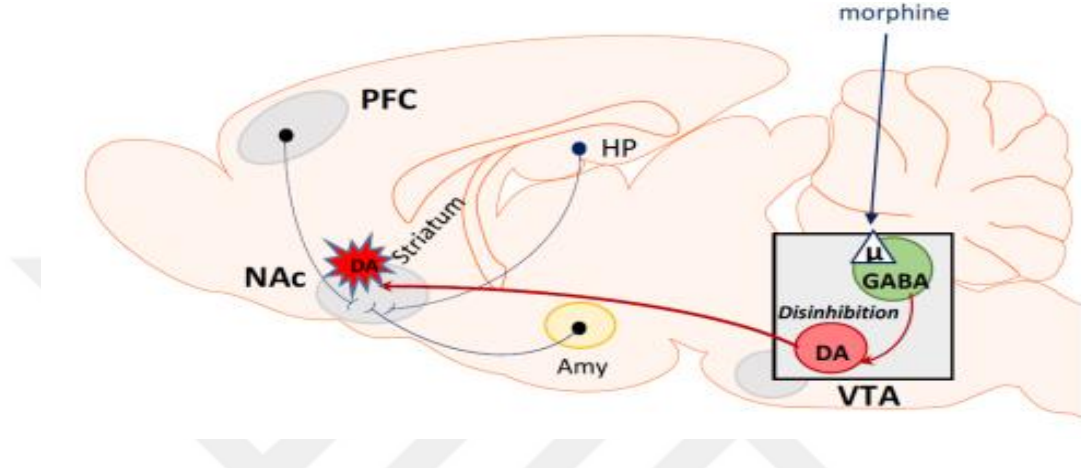
bölgelerin uyarılması ile ilişkilendirilmektedir. Mezolimbik yolak uyarıldığında, haz alma merkezi olarak tanımlanan nükleus akumbensten dopamin salınımı artmaktadır (Di Chiara 2000). Fakat ventral striatum, hipokampus, prefrontal korteks veya amigdala gibi diğer beyin bölgelerinden gelen uyarılar da mezolimbik sistemi uyarabilmekte (Koob ve ark. 2004) ve nükleus akumbenste dopamin artışına sebep olabilmektedirler. Bu nedenle, ilaç alımındaki aşırı miktarda bir artışın, beyindeki ödüllendirici dopamin yollarının düzensizliği ile karakterize olduğu bildirilmiştir (Anderson ve Pierce 2005; Listos ve ark. 2016). Böylece morfin ve diğer opioidlerin ödüllendirici etkisi VTA'nın GABA'erjik terminallerindeki lokalize olmuş MOR stimülasyonu ile ilişkilendirilmektedir. Bu şekilde bir uyarı GABA salınmasını inhibe etmektedir, böylece dopaminerjik nöron inhibisyonu devre dışı kalmakta, öfori duygusu uyarılmakta ve madde bağımlılığının gelişmesine neden olan nükleus akumbensten dopamin salınmaktadır (Wise ve Rompre 1989; Johnson ve North 1992; Bodnar 2016). Dopamin, morfinin ödüllendirici etkisinde önemli bir rol üstlenmektedir. Merkezi sinir sistemindeki (MSS) diğer nörotransmitterler ve nöromodülatörler dopaminerjik sistemi etkilemekte ve dolaylı yoldan morfin bağımlılığının farklı aşamalarında etki göstermektedirler. Bu nörotransmitterler glutamat (Sepehrizadeh ve ark. 2008; Farahmandfar ve ark. 2011), serotonin (Reith ve ark. 1997), γ -aminobütirik asit (Frankowska ve ark. 2008; Carr ve Sesack 2000), noradrenalin (Frankowska ve ark. 2008; Reith ve ark. 1997; Zaniowska ve ark. 2015), adenosin (Listos ve ark. 2016), nitrik oksit (NO) (Sahraei ve ark. 2007), oreksin (Alijanpour ve ark. 2016) ve diğerleridirler. Potansiyel olarak ödül yolağında bulunan bu nörotransmitterlerin farmakolojik olarak etkilenimi ilaç bağımlılığındaki oluşan özlem duygusunu etkileyebilmektedir.

2.1.4. Morfin

2.1.4.1. Morfinin Tarihçesi ve Yapısı

Morfin, bir haşhaş bitkisi olan *Papaver Somniferum*'da bulunan doğal şekilde oluşan alkaloid türevidir. Bitkilerinin yaş meyve halinde dış kabuklarının çizilmesi ile ortaya çıkan meyve özlerinin kurutulmuş halidir (Koob ve Le Moal 2006). Dünya'da ilk defa F. Wilhem Adam Sertürner adlı bir Alman bilim adamı tarafından izole edilmiştir (Sertürner 1925). Wilhem morfine, morfin ismini Yunan tanrılarında olan Morpheus'tan esinlenerek vermiştir (Schiff 2002). Morfinin en önemli etkisi analjezik

etkisi olmasıdır. Bu etkisi nedeni ile 1830’lu yıllarda oldukça sık kullanılmıştır (Schiff 2002). Kanser kaynaklı ağrılarda, orta ve yüksek şiddetli ağrılarda, ameliyat sonrası ağruların tedavisinde sıklıkla kullanılmaktadır (Christie 2008). Analjezik etkisi sebebiyle en çok kullanılan opioit ajandır. Fakat kullanım esnasında tolerans, bağımlılık, ara verildiğinde veya bırakıldığında ise yoksunluk sendromu oluşmasına sebep olmaktadır (Koob ve Le Moal 2006).



Şekil 2.1. Morfinin ödül sistemi üzerindeki etki mekanizması. Morfinin ödül sistemine etkisi VTA içerisinde yer alan GABA’erjik terminaldeki MOR opioit reseptörlerinin stimülasyonu ile ilişkilendirilmiştir. Morfin, GABA salınımını inhibe etmekte ve NAC’deki dopaminerjik nöronları uyarmaktadır. PFC (prefrontal korteks); NAc (nükleus akumbens); HP (hipotalamus); Amy (amigdala); VTA (ventral tegmental alan); GABA (gama aminobütirik asit); DA (Dopamin) (Listos ve ark. 2019).

2.1.4.2. Morfinin Akut ve Kronik Etkileri

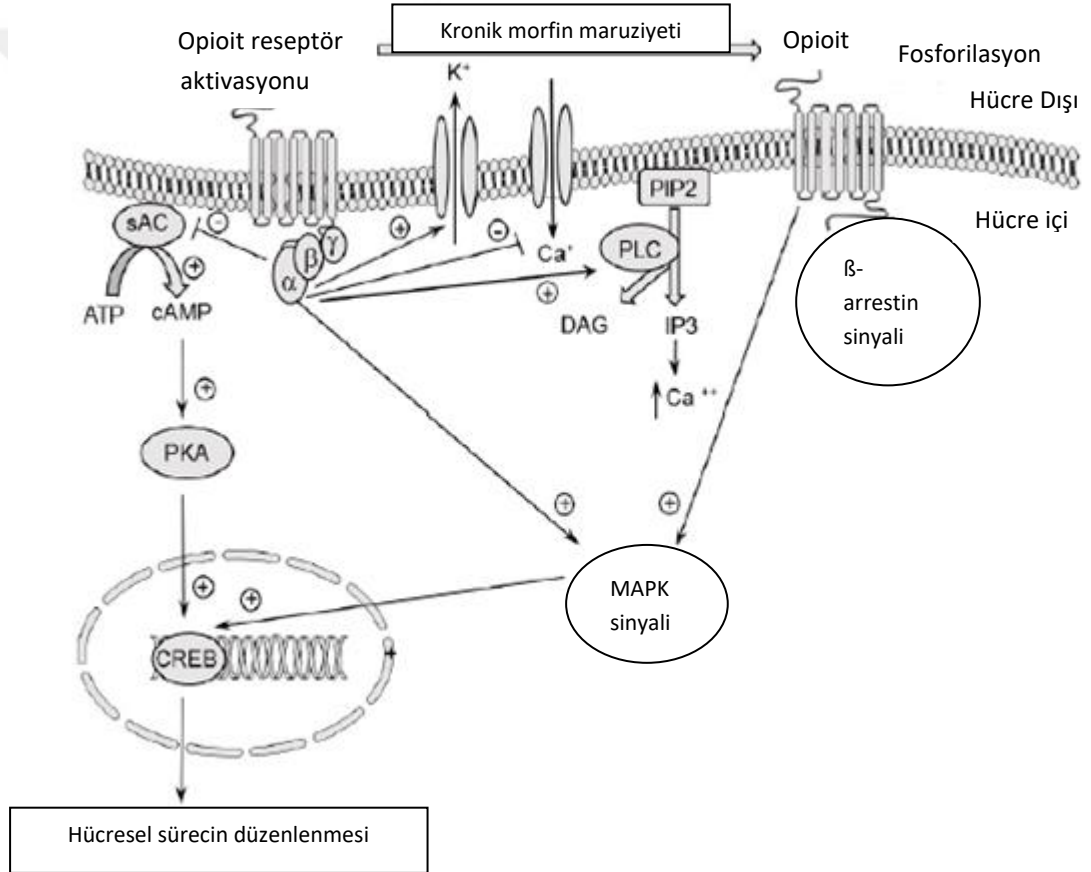
Opioit reseptörlerinin farklı beyin alanlarındaki (hipokampus, nükleus akumbens, lokus coeruleus, vb) potasyum ve kalsiyum kanalları üzerindeki etkisi birçok çalışmada bildirilmiştir ve bu kanalların opioit reseptörlerinin aktivasyonu için anahtar rol oynadığı düşünülmektedir (Zamponi ve Snutch 1998; Torrecilla ve ark. 2008).

Kronik morfine maruz kalmak GRK’lar tarafından opioit reseptörlerinin fosforilasyonunu uyarmaktadır. Bu fosforilasyon, opioit reseptörlerini arrestin bağları için hazırlamaktadır. Arrestin bağları, G protein aracılı sinyalleri bloklamaktadırlar. Böylece bu bağlar opioit reseptörlerinin duyarsızlaşmasına neden olmaktadır (Allouche ve ark. 2014).

Akut dozdaki morfinin etkisi, morfinin opioit reseptörlerini aktifleştirmesi ile ilişkilidir ve en fazla MOR ile afinite göstermektedir (Waldhoer ve ark. 2004; Bodnar

2016). Histamin salınımında artışa, hipotansiyona ve bronkospazma sebep olabilmektedir (Trescot ve ark. 2008).

Oral yoldan vücuda alınan morfin gastrointestinal sistem ile tamamen absorbe edilebilir fakat presistemik eliminasyona uğrayarak ilacın biyoyararlılığı azalır, bu nedenle intramüsküler veya cilt altı enjeksiyonla etkisi 20. dakikada başlayarak 45-90 dakika içerisinde maksimum değere ulaşmaktadır ve bu etkisi 4-6 saat devam etmektedir. İntravenöz enjeksiyonlarda ise analjezik etkisi 1-2 dakikada gözlenmeye başlamakta ve 10-20. dakikalarda maksimum değere ulaşmaktadır. Bu etkisi daha kısa süreli olmaktadır. Vücuda giren morfinin %90'ı yaklaşık olarak 24 saat içerisinde elimine edilmektedir (Brunton ve ark. 2011).



Şekil 2.2. Morfinin moleküler etkilerinin şekil olarak gösterimi.

Morfin aktivasyonunun moleküler mekanizmasının görselleştirilmesidir. Ligant opioit reseptörlere bağlanarak G_o veya G_i proteinlerini aktive eder. α -GTP, β dimerden ayrılır. Bu, adenilat siklaz aktivitesinin inhibisyonuna ve hücre içinde cAMP seviyesinin ve protein kinaz A'nın azalmasına yol açar. Potasyum kanalının aktivasyonu ve hücre içinde hiperpolarizasyon gözlenir. Dimer kalsiyum kanalını bloke eder ve hücrelerin içindeki kalsiyum konsantrasyonunu azaltır. Opioit reseptörlerinin morfin tarafından kronik uyarılması, opioit reseptörlerinin fosforilasyonunu indükler. sAC-çözünür adenil siklaz; PKA-protein kinaz A; CREB-cAMP cevap elemanı bağlayıcı protein; PIP2-fosfatidilinositol bifosfat; PLC-fosfolipaz C; DAG-diaçilgliserol; IP3-inositol trifosfat; MAPK – mitojenle aktifleştirilen protein kinazlar (Listos ve ark. 2019).

2.1.4.3. Morfin Bağımlılığı

Kronik morfine maruz kalmak psikolojik ve fizyolojik bağımlılığa sebep olmaktadır (Robinson ve Berridge 2000; Koob ve Le Moal 2006; Goodman 2008). Psikolojik bağımlılık fizyolojik bağımlılıktan önce oluşmakta ve maddeye duyulan özlem ile kendini belli etmektedir. Morfine olan fiziksel bağımlılık ise verilen ilaç uygulamasının aniden kesilmesi ile kendini belli etmekte (Listos ve ark. 2013; Taylor ve ark. 2016) veya opioit reseptör antagonistlerinin uygulanmasıyla ortaya çıkmaktadır. Zamanla fiziksel bağımlılığın farklı bir parametresi olan morfin toleransı da gelişmektedir (Nakamoto ve ark. 2012).

2.1.4.4. Morfin Çekilmesi

Deneyisel farmakolojide morfin çekilmesi için en yaygın nalokson kullanılmaktadır ve genelde 1 ile 6 mg/kg arasında bir dozda uygulanmaktadır (Done ve ark. 1992; Hooshmandi ve ark. 2017). İnsanlarda morfin yoksunluk belirtileri hapşırma, burun akıntısı, öksürük, karın ağrısı, ishal, anoreksi ve anksiyete gibi diğer etkiler olarak gözlenmektedir (Harris ve Gewirtz 2005; Evans ve Cahill 2016). Hayvanlardaki yoksunluk çekilmesi belirtileri zıplama, pençe titremesi, diş gıcırdatması, köpek salyası ve ishal olarak gözlenmektedir (Schulteis ve ark. 1994; Zhang ve Schulteis 2008). Morfinin yoksunluk belirtilerinin şiddetini analiz etmede, geçirilen atakların sayısı dikkate alınmaktadır (Listos ve ark. 2013; Taylor ve ark. 2016).

Bazı araştırmacılar mezokortikolimbik sistemdeki dopamin konsantrasyonlarındaki azalmanın morfin çekilmesinde çok önemli bir rol oynadığını iddia etmektedirler (Koob ve ark. 1989; Elman ve ark. 2013). Noradrenalin (Fox ve ark. 2017), glutamat (Sepulveda ve ark. 1998), serotonin (Zhang ve ark. 2016), oreksin (Zhou ve ark. 2006) ve kortizol (Reisi ve ark. 2013) gibi nörotransmitterler de morfin çekilmesinde rol oynayabilirler. Ayrıca, nörotransmitterlerdeki bu değişikliklere, cAMP seviyesinde önemli bir artış (Meyne ve ark. 2012) ve MAP kinaz yolağının (ERK 1/2) (Bilecki ve ark. 2005; Cao ve ark. 2005) regülasyonu gibi hücre sinyal yollarındaki değişiklikler eşlik etmektedir.

2.1.4.5. Morfin Toleransı

Morfin toleransı, aynı keyif duygusunun hissedilebilmesi için daha fazla madde alımına ihtiyaç duyulması ve bu dozun zamanla artırılması durumuna verilen isimdir (Nakamoto ve ark. 2012).

Tolerans tipleri farmakokinetik, farmakodinamik ve öğrenilmiş tolerans olmak üzere üçe ayrılmaktadırlar. İlaç dağılımı veya metabolizmadaki değişimler farmakokinetik toleransa; bağımlı olunan ilacı kullanırken bazı davranışların öğrenilmesi öğrenilmiş toleransa; ilacın ortamda fazla miktarda bulunması ile opioit reseptörlerinin kendini kapatması, sinyal yollarındaki değişimde dahil olan tüm nörouyumsal değişiklikler farmakodinamik toleransa dahil edilmektedir (Mitra ve Sinatra 2004). Morfin toleransı, dopamin (Zarrindast ve ark. 2002; Ozdemir ve ark. 2013), serotonin (Singh ve ark. 2003), asetilkolin (Gawel ve ark. 2017), oreksin (Abdollahi ve ark. 2016) veya endokannabinoidler (Wilson-Poe ve ark. 2015) ve diğer nörotransmitterlerle de modifiye edilebilmektedir.

2.1.5. Nalokson

Nalokson, narkotiklerin etkilerini etkili bir şekilde antagonize eden oksimorfonun sentetik bir N-alil türevidir. Nalokson için yarılanma ömrü 4,7 dakika olarak bildirilirken (Ngai ve ark. 1976), eliminasyon yarılanma ömrü 30 ila 100 dakika (Fishman ve ark. 1973), ortalama 65 dakika olarak bildirilmiştir (Ngai ve ark. 1976). Naloksonun ana metaboliti nalokson-3-glukuronittir ve esas olarak glukuronit asit ile konjugasyonun bir sonucu olarak karaciğer tarafından hızla metabolize edilmektedir (Weinstein ve ark. 1971; Fishman ve ark. 1973).

2.2. Melatonin

2.2.1. Melatonin Molekülü

Melatonin, ilk defa kurbağalarda yapılan deneyler sonucunda pineal bezden sentezlenen bir molekülün kurbağa deri ton rengini açık hale getirmesiyle Upjohn Şirketi'nden R. V. Heinzelman ve J. Szmuszkovicz'in yardımıyla Lerner tarafından maddenin moleküler yapısının çözülmesi ile sentezlenebilmiştir. Bu moleküle melatonin adı verilmiştir. Alfa-MSH gibi melatoninin de bir azot atomuna bağlı bir asetil grubuna sahip olduğu bulunmuştur. Kurbağa derisinin aydınlatılmasının gösterilmesi amacıyla sentetik melatonin kullanılmıştır. Ancak memelilerle yapılan

çalışmalarda pigmentasyon üzerine herhangi bir etkisinin olmadığı bilgisine ulaşılmıştır (Lerner 1961). Keşfedilmesinden kısa bir süre sonra, pineal bezdeki sentetik yolu tespit edilmiştir.

2.2.2. Pineal Bez

Pineal bez omurgalıların beyin bölgesinde yer alan gri ve kırmızı renkte olan ve melatonin sentezi yapan bir bezdir. Büyüklüğü ve bulunduğu beyin bölgesi türlere göre farklılık gösterebilir. Keşfi milattan önce 300'lü yıllara dayandırılmaktadır. şimdiki adını çam kozalağına benzerliğinden dolayı almıştır. Pineal bezin iç salgı yapan bir organ olarak tanımlanması 1950'li yılların sonlarında, sığır pineal dokusunda N-asetil-5-metoksitriptaminin, yani N-asetil-5-metoksitriptaminin metoksi türevinin izolasyonu ve saptanması ile gerçekleşmiştir (Lerner ve ark. 1958; 1959). Birçok kaynakta Dünya'ya açılan üçüncü göz olarak tanımlanmaktadır (Reiter 1981).

Pineal bez tarafından salgılanan ana hormon melatonindir (Claustrat ve ark. 2005). Pineal bezdeki melatonin hormonu miktarı günlük ritme göre farklılık göstermektedir (Lynch 1971). Esas olarak geceleri sentezlenmekte ve salgılanmaktadır (Axelrod ve ark. 1965). Melatonin amfoterik bir bileşiktir bu sebeple hücre çekirdeğinden, hücre plazmasından (Hardeland ve ark. 1993) ve kan beyin bariyerinden kolaylıkla geçebilmektedir (Pardridge ve Mietus 1980).

2.2.3. Melatoninin Fizyolojik Fonksiyonları

Melatonin düzenleyici birçok fonksiyonu bulunan bir hormondur. Melatoninin MSS üzerinde önemli düzenleyici etkileri mevcuttur (Yahyavi ve ark. 2007). Sirkadiyen ritminin düzenlenmesinde büyük bir rol oynamaktadır (Reiter ve Korkmaz 2008). Melatonin antiinflamatuvar, antioksidan ve antiapoptotik ajan olarak dikkat çekici özelliklere sahiptir.

Yüksek etkinliği, güvenliği ve temel toksisite azlığı ile klinik pratikte ilgi uyandırmaktadır (Reiter ve Korkmaz 2008). Melatoninin, antinosiseptif etkileri ve ters morfin toleransını artırdığı gösterilmiştir (Song ve ark. 2015). Ayrıca, morfine bağlı hiperaljezi ve spinal astrogliya aktivasyonu melatonin ile hafifletilebilmektedir (Wei ve ark. 2012). Melatoninin, çeşitli nörotransmitterler ve nöromodülatörlerin özellikle dopamin, FSH, gonadotropin salıverici hormon (GnRH) ve siklik nükleotitlerin neden olduğu cAMP yükselmesini azalttığı bildirilmiştir (Vanecek 1998). Aynı zamanda

melatonin organizmada üretilen ve yüksek derecede tahrip edici olduğu bilinen hidroksil radikalinin (OH) olumsuz etkilerini baskılamaktadır (Reiter ve ark. 2002). Daha önce yapılan bir çalışmada yüksek toksisiteye sahip ve karsinojen olan safrol deney hayvanlarına uygulanmıştır ve karaciğer hücrelerinde yüksek miktarda DNA hasarı gözlenmiştir. Safrolle aynı zamanda melatonin verildiğinde ise DNA hasarının azaldığı bildirilmiştir (Tan ve ark. 1993). Melatonin güçlü bir antioksidan olması sebebiyle, düzeyinin azalması beynin oksidatif atakla daha fazla hasarlanmasına neden olmaktadır. Böylece yaşlanma endojen melatonin seviyesindeki belirgin azalmayla ilişkili olmakta, yaşlanma sürecinde sinir dokusu ileri derecede hasar verici serbest radikallere daha fazla maruz kalmaktadır (Reiter 1992). Aynı zamanda Alzheimer hastası olan bireylerin Alzheimer olmayan bireylere göre daha az melatonin düzeyine sahip oldukları bildirilmiştir (Maurizi 2001).

Ratlarla yapılan başka bir çalışmada yaşlı ratlarda melatonin seviyesinin genç ratlara oranla daha düşük (~ %75) olduğu fakat melatonin sentezindeki gece piklerinin hala devam ettiği ama bu piklerin gençlerdeki piklere göre daha az olduğu bildirilmiştir (Míguez ve ark. 1998). Yaşlanmayla eş zamanlı olarak vücuttaki melatonin miktarının azalmasının, beta-adrenerjik reseptörlerin sayısının azalmasına bağlı olduğu düşünülmüştür (Weiss ve ark. 1980). Vücuda eksojen yolla uygulanan melatoninin ortalama sıçan yaşam süresini 25 aydan 31 aya kadar uzattığı bildirilmiştir (Maestroni ve ark. 1988). Melatoninin kanserli dokuların proliferasyonunda, mitotik aktivitenin azaltılmasında ve meme bezlerinde antiöstrojenik etkiye sahip olduğu belirtilmiştir (2009). Melatoninin, GnRH salınımını etkileyerek LH ve testosteron sentezini azalttığı saptanmıştır (Mo ve Kas 2002). Melatonin serbest radikalleri uzaklaştırarak gastrointestinal kanalda ülser oluşumunu azaltıcı etki göstermektedir (Genet ve Tez 2014). Özetle melatonin oksidatif fosforilasyon etkinliğini artırmakta, oksijenden türeyen radikalleri detoksifiye etmekte, adezyon moleküllerini azaltmakta, antioksidan enzimlerini uyarmakta, geniş ve yaygın hücre içi dağılım göstermekte, tüm morfofizyolojik bariyerleri geçmekte, hücre membranını stabilize etmekte, nitrojen türeyen radikalleri detoksifiye etmekte ve pro-inflamatuvar sitokinleri azaltmaktadır (Reiter 2003).

2.2.4. Melatonin Sentezi

Melatonin sentezi, triptofan ile başlamakta ve serotoninden dönüştürülerek sonlandırılmaktadır. Pinealositlerde triptofan, triptofan hidroksilaz vasıtasıyla 5-hidroksitriptofana hidroksillenmektedir. Bu aşamada görev üstlenen triptofan hidroksilaz enzimi, serotonin sentez yolağının birinci enzimidir ve yolağın hız baskılayıcı aşamasını oluşturmaktadır (Rahman ve ark. 1982). 5-hidroksitriptofan, L-aminoasit dekarboksilaz enzimi vasıtasıyla var olan karboksil grubundan ayrışarak 5-hidroksitriptamine yani serotonine dönüştürülmektedir. Serotonin, sonraki aşamada N-asetil transferaz (NAT) enzimi vasıtasıyla asetillenerek N-asetilserotonine dönüştürülmektedir. N-asetilserotonin ise hidroksiindol-O-metiltransferaz (HIOMT) ile melatonine dönüşmektedir (Cardinali ve Pévet 1998; Palaoğlu ve Beşkonaklı 1998; Maksimovich 2002; Boutin ve ark. 2005). Pineal bezde istisnai derecede serotonin bulunduğu için bu öncülün düşüklüğü hiçbir zaman melatonin sentezi için bir kısıtlayıcı durum oluşturmamaktadır (Quay 1963). Triptofan diyetle elde edilen 9 temel amino asitten birisidir (Zelante ve ark. 2013; Gao ve ark. 2018). Triptofan melatonin sentezi için pineal bez vasıtasıyla plazmadan temin edilmekte ve pinealositlerde sentezlenmektedir. İşlev üstlenen hidroksiindol-O-metiltransferaz enziminin pineal bez dışında başka yapılarda bulunması, melatonin salgılanmasının başka bölgelerde de olduğuna kanıttır. Harder bezinde, lakrimal bezde, retinada, eritrositlerde, trombositlerde ve gastrointestinal sistemdeki birtakım hücrelerin de melatonin salgıladıkları bildirilmiştir. Fakat salgılanan miktarın kan dolaşımındaki melatonin seviyesine katkısı oldukça az olmaktadır (Cardinali ve Pévet 1998, Maksimovich 2002). Aynı zamanda karaciğerde de sentezlendiği bilinmektedir (Bouchard ve ark. 1981).

Melatonin sentezindeki nokturnal artış, uyarıcı suprakiazmatik çekirdeklerden (SCN) kaynaklanan elektriksel aktivite ile sağlanmaktadır (Moore ve Klein 1974). SCN, norepinefrinin gangliyonik sempatik sinir uçlarından birincil olarak β 1-adrenerjik reseptörleri aracılığıyla melatonin üretimini başlatan bir elektrik sinyali göndermektedir (Maronde ve Stehle 2007). Pineal bezin parasempatik bir inervasyonu da tarif edilmiştir ancak melatonin üretimini belirlemedeki önemi ihmal edilebilir düzeyde olduğu bildirilmiştir (Kappers 1969). NAT seviyesi çevredeki ışığa göre değişkenlik göstermektedir, ışıklı ortamda seviyesi düşük ve karanlık ortamlarda ışıklı

ortama göre seviyesi 15-30 kat artmaktadır (Klein ve Weller 1970). Triptofan hidroksilaz, mRNA'nın ifadesi ve aynı zamanda enzimin aktivitesi de günlük ritme göre değişkenlik göstermektedir (Sugden 2003). 21.00-22.00 saatlerinde salgısı artmaya başlamakta ve gece 02.00-04.00 saat aralığında pik noktaya ulaşmaktadır. Sabah 05.00-07.00 saat aralığında salgılanması azalmaya başlamakta ve saat 07.00'den sonra salgılanması aşağı seviyelere düşmektedir. Kan konsantrasyonundaki melatonin gündüz saatlerinde yaklaşık olarak 0-20 pg/dl düzeylerindeyken, gece saatlerinde 50-200 pg/dl seviyelerine yükselmektedir. Bir günde 30 mg melatonin sentezlenmektedir ve bunun 4/5'ini gece sentezlenen melatonin kapsamaktadır (Waldhauser ve Ditzel 1985).

Kandaki melatoninin, %60-70'i albumine bağlı bulunmaktadır. Melatonin intravenöz yolla dolaşıma verildiğinde dağılımı hızlı olmaktadır ve 0,5 dk-5,6 dk arasındaki yarılanma ömrü ile elimine edilmektedir (Iguchi ve ark. 1982). Metabolize olması sonucu melatonin 6-hidroksimelatonine çevrilmektedir. 6-hidroksimelatonin konjugasyona uğrar ve metabolitlerinden birisi olan 6-hidroksimelatonin sülfat, idrar yoluyla vücut dışına atılan ana bileşendir. Bu idrar bileşen yapısı özellikle çocuklarda pineal bezi işlevlerinin değerlendirilmesinde kullanılmaktadır (Webb ve Puig-Domingo 1995).

Melatonin memelilerde dört farklı mekanizma ile etki göstermektedir:

- 1-) Plazma membranındaki melatonin reseptörlerine bağlanarak,
- 2-) Kalmodulin gibi hücre içi proteinlere bağlanarak,
- 3-) Orphan nükleer reseptörlerine bağlanarak,
- 4-) Antioksidan etki ile etkinliğini göstermektedir (Ekmekcioglu 2006).

2.2.5. Melatonin Reseptörleri

2.2.5.1. MT1 ve MT2 Melatonin Reseptörleri

Memelilerde, G proteini bağlı daha önceki adı Mel_{1a} ve Mel_{1b} olan şimdiki adı MT1 ve MT2 olan melatonin alt reseptör tipleri bulunmaktadır. MT1 reseptörleri, hipofizin pars tuberalis bölümünde ve hipotalamusun suprakiazmatik nükleus bölgesinde bulunmaktadır. İyodomelatonin kullanımıyla, MT1 reseptörünün pars tuberalis, hipotalamus gibi çeşitli beyin bölgelerinde ve memelilerde kardiyovasküler

sistem, gastrointestinal sistem, bağışıklık sistemi ve böbrek dahil olmak üzere periferik dokularda ifade edildiği ispatlanmıştır. MT2 reseptörleri; retina bölgesinde, beyin ve gastrointestinal sistem dahil olmak üzere birçok organda bulunmaktadır (Morgan ve ark. 1994; Bubenik 2002; Wiechmann ve Sherry 2013). Ayrıca MT1 ve MT2 reseptörlerinin; serebellumda, retinal yolaklarda ve gangliyon hücrelerinde de var olduğu saptanmıştır (Reppert 1997; Sugden ve ark. 2004; Boutin ve ark. 2005). Bu reseptörler doğal ligant melatonin için afiniteleri bakımından bir miktar farklılık göstermektedirler. İnsan MT1 ve MT2 reseptörleri, ilgili Ki değerleri sırasıyla 80.7 ve 383 pM olarak bildirilmiştir (Kato ve ark. 2005). Aynı zamanda sirkadyen ritmin düzenlenmesinde, üreme fonksiyonlarında ve serebral arter kasılmasında görev almaktadırlar (Petit ve ark. 1999; Conway ve ark. 2000; Dubocovich ve ark. 2003).

Bazı bilinen agonistleri; uzun salınımlı melatonin analogu olan sirkadin, bazı uyku problemlerinde kullanılan ramelton, tasimelteon, PD-6735, uyku düzenlenmesi ve depresif durumlarda kullanılan agomelanindir. Antagonistleri ise afobazol ve luzindoldur (Patel ve ark. 2020).

2.2.5.2. MT1/MT2 Heteromer Melatonin Reseptörü

Önceki çalışmalarda, melatonin reseptörlerinin dimerler veya daha yüksek dereceli oligomerler oluşturma potansiyeline sahip olduğu ileri sürülmüştür (Ayoub ve ark. 2002). Bu fikir çeşitli dokularda her iki reseptör tipinin birlikte ifadesi ve heteromere özgü bir farmokolojik yapının mevcudiyeti ile desteklenmektedir (Milligan 2006). Fare retinasında geceleri ışık duyarlılığına sahip olan ve melatonine bağlı artıştan sorumlu MT1/MT2 heteromerlerinin varlığı bildirilmiştir (Baba ve ark. 2013). Transgenik farelerde yapılan çalışmalar sonucunda MT1/MT2 heteromerinin antagonistleri luzindol ve 4-Phenyl-2-propionamidotetralin (4P-PDOT) olarak belirtilmiştir ve N-Butanoyl 2-(9-methoxy-6H-iso-indolo[2,1-a]indol-11-yl)-ethan-amine (IHK7), MT1/MT2 heteromer agonistidir. Bu çalışma aynı zamanda da MT1/MT2 heteromerinin varlığı ve fonksiyonelliği hakkındaki ilk kesin kanıttır. Gelecek çalışmalarda MT1/MT2 heteromerinin muhtemelen insanların çeşitli dokularında da ortaya konabileceği bildirilmiştir (Savaskan ve ark. 2002b, 2007; Tosini ve ark. 2014). Bir diğer çalışmada ise MT1/MT2 heteromerlerinin G_i ve G_q bağımlı sinyal yollarına bağlandığını ve heteromerlerin, büyük olasılıkla reseptör seviyesinde meydana gelen pozitif allosterik etkileşimler nedeniyle bu yolları

etkinleştirmede daha güçlü ve verimli olma eğiliminde olduğu gösterilmiştir (Jockers ve ark. 2008).

2.2.5.3. MT3 Melatonin Reseptörü

MT3 (Mel_{1c}) adlı reseptör tipi memelilerde bulunmamakta; amfibilerde, balıklarda ve kuşlarda bulunmaktadır (Emet ve ark. 2016). Ayrıca sinyalleşme ve GMP'nin siklusunda etkinliği vardır (Jockers ve ark. 1997). Mel_{1c} klonlanan ilk melatonin reseptörüdür (Ebisawa ve ark. 1994).

2.2.5.4. NQO2, Kinon Redüktaz 2 Enzim, QR2 Reseptörleri

MT3 homojenliğe kadar saflaştırılmıştır ve QR2 (kinon redüktaz 2) olarak tanımlanmıştır. Ayrıca NQO2 [NRH (N-ribozydihydronicotinamide): guanin oksiredüktaz 2)] olarak da bilinmektedir (Nosjean ve ark. 2000). Kinonların elektron transfer reaksiyonlarını inhibe eden ve oksidatif strese karşı koruma sağlayan reseptör grubu olduğu bildirilmiştir (Pandi-Perumal ve ark. 2008). Kalp, kas, karaciğer, barsak, akciğer, böbrek ve kahverengi yağ dokusunda yer almaktadır (Ekmekcioglu 2006).

2.2.5.5. Retinoid Bağlantılı Orphan Nükleer Hormon Reseptörleri

Melatonin ayrıca retinoid ile ilgili orphan nükleer hormon reseptörü (RZR/RORa) için bir ligandır. İnsan lenfositik hücreleri (jurkat) ve monositik hücreleri (U937) üzerinde yapılan bir çalışmada, melatoninin nükleer RZR/ROR α reseptörleri ve membran MT1 reseptörleri aracılığıyla aktivite göstererek IL-2 ve IL-6 üretimini arttırdığı bildirilmiştir. Bu çalışmada nükleer melatonin reseptör ekspresyonunun, melatoninin IL-6 üretimi üzerindeki etkisi için gerekli olduğu sonucuna varılmıştır (Garcia-Maurino ve ark. 2000).

2.2.5.6. Melatonin ile İlgili Orphan Reseptörleri

GPBR ailesinin birkaç üyesi, heterodimerizasyon yoluyla diğer reseptörlerin işlevini modüle etmektedir. G protein reseptörü 50 (GPR50), insan MT1 ve MT2 reseptörleri ile yaklaşık %45 özdeşdir ve bazı hücrelerde MT1 ve MT2 melatonin reseptörleri ile yapısal ve spesifik olarak heterodimerleşmektedir (Levoye ve ark. 2006). GPR50 ve MT2 arasındaki ilişki MT2 fonksiyonunu değiştirmezken, GPR50 yüksek afiniteli agonist bağlanmasını ve MT1 reseptörüne G protein bağlanmasını ortadan kaldırdığı bulunmuştur. Genetik GPR50'nin silindiği bir gen çalışmasında

GPR50'nin bipolar depresyon ve majör depresif bozukluk ile ilişkili olduğu saptanmıştır (Thomson ve ark. 2005).

2.2.5.7. Melatonin Reseptörlerinin Hücresel Sinyalleşme Mekanizması

Melatonin, spesifik hücreye ve türlere bağlı olarak, membran reseptörlerine bağlanmasından sonra çeşitli farklı ikinci haberci basamaklarını aktive etmektedir ve melatonin sinyal yolları türlere göre farklılık göstermektedirler (Hardeland 2009). MT1 ve MT2 reseptörleri doğal ligantlar için yüksek afiniteye sahiptirler (düşük pM aralığı) ve baskın olarak $G_{i/o}$ proteinlerine bağlanmaktadır. MT1 ve MT2 reseptörleri hücre içinde adenilat siklaz inhibisyonu, cAMP'deki azalma ve PKA aktivitesinin modülasyonunu sağlamaktadırlar. Şimdiye kadar, sinyal seviyesindeki MT1 ve MT2 reseptörleri arasındaki en büyük fark, yalnızca MT2 ile transfekte hücrelerde gözlenen cGMP üretimini inhibe edebilmesi ile ilgilidir (Petit 1999). MT1 ve MT2'nin diğer G protein çeşitlerine (β -arrestinler ve MAP kinazlar gibi) sinyal moleküllerine bağlandığı da bildirilmiştir (Brydon ve ark. 1999; Kamal ve ark. 2015; Cecon ve ark. 2018). Diaçilgliserol, fosfolipaz C (PLC), ikinci haberciler inositol trisfosfat, kalsiyum ve kinazlar dahil olmak üzere melatonine yanıt olarak çeşitli moleküllerin toplandığı, aktive edildiği veya üretildiği bildirilmiştir (PKA, PKC ve MAP kinaz ailesi gibi) (Cecon ve ark. 2018). Transkripsiyon seviyesinde, melatonin sinyalleşmesi genellikle transkripsiyon faktörü cAMP'ye duyarlı element bağlayıcı protein (CREB) kontrolü altındaki genlerin transkripsiyonunu negatif olarak düzenlemektedir ve ERK ile indüklenen transkripsiyon faktörleri tarafından kontrol edilen genlerin transkripsiyonunu pozitif olarak düzenlemektedir. Bazı ek sinyal yollarının belirli melatonin etkilerine aracılık ettiği bildirilmiştir; bunlardan bazıları yalnızca belirli hücre tiplerinde (örneğin, bağışıklık sisteminin hücreleri) veya belirli durumlarda (örneğin kanser hücreleri) meydana gelmektedir (Cecon ve ark. 2018; Smith ve ark. 2018).

2.2.6. Hipotalamus

Hipotalamus beyinde talamusun altında yer alır, yaklaşık 4 gr ağırlığındadır ve üçüncü ventrikülün tabanını oluşturmaktadır. Hipotalamus; endokrin sistem, otonom ve somatik sinir sistemi ile sürekli etkileşim halindedir ve homeostazı koruyan yüksek seviyeli bir duyuşal entegrasyon ve motor çıkış alanıdır. Hipotalamus aynı zamanda vücut fonksiyonlarını temelden etkilemektedir.

Fonksiyonlarını özetleyecek olursak hipotalamus; vücut ısısının düzenlenmesi, kalp atımlarının ve kan basıncının düzenlenmesi, sıvı-elektrolit dengesi ve susamanın düzenlenmesi, iştah ve vücut ağırlığının düzenlenmesi, mide ve barsak salgılarının düzenlenmesi, hipofizden hormon salgılanmasının düzenlenmesi, kızgınlık, korku, öfori gibi duygu durumlarının düzenlenmesi, açlık, susama ve cinsiyet gibi motivasyonel davranışların düzenlenmesi, biyolojik ritmin düzenlenmesi görevlerini üstlenmektedir (İnsan Fizyolojisi, 2020). Hipotalamusun özellikle hayvan davranışları üzerindeki etkileri hipotalamusun lezyonları veya uyarılmasıyla ortaya çıkmaktadır. Hipotalamusta, hipotalamusun uyarıldığı veya lezyona uğradığı bölgeye göre farklı yanıtlar tespit edilmiştir. Hayvanlarda lateral hipotalamusun uyarılması susama ve açlık duygularıyla beraber öfke ve kavga davranışlarının da tetiklenmesine yol açmaktadır. Ventromedial çekirdeğin uyarılması doyma hissi ve iştahın azalmasını tetiklemektedir. Periventriküler çekirdek bölgesinin uyarılması ile korku ve cezalanma yanıtı oluşmaktadır. Ön ve arka hipotalamusun uyarılması ile de seks dürtüleri tetiklenmektedir. Hipotalamus lezyonlarının ortaya çıkardığı etkiler ise uyarılmasıyla ortaya çıkan cevapların genellikle tersidir. Lateral hipotalamusun çift taraflı lezyonu yeme içme dürtüsünü azaltarak neredeyse sıfır düzeyine indirmektedir. Ventromedial alanın çift taraflı lezyonu ise aşırı yeme içme ve hiperaktivite dürtülerinin oluşmasına sebebiyet vermektedir (Guyton 2017a).

2.2.6.1. Hipotalamus ve Melatonin Reseptörleri

Melatonin reseptör dağılımı ile ilgili olarak hipotalamustaki en yoğun bulunduğu alan SCN'dir. İnsanda, SCN'deki MT1 reseptör protein içeriğinin en yüksek olduğu bildirilirken sıçanda ise esas olarak SCN nöronlarının dendritleri ve somaları üzerinde lokalize olduğu saptanmıştır (Waly ve Hallworth 2015). MT2 reseptörü için, SCN'deki seviyesi MT1'e kıyasla nispeten düşüktür. MT2 reseptörlerinin lokalizasyonu baskın olarak paraventricüler çekirdekte ve supraoptik çekirdekte tanımlanmıştır (Wu ve ark. 2013).

Melatonin, hipotalamus ve retinadan dopamin salınımını inhibe edebilmektedir. Bu inhibisyon, uyarılmış doku tarafından kalsiyum alımının baskılanması ile ilişkilidir (Dubocovich 1983; Zisapel 2001). Ek olarak fonksiyonel ve ligant bağlanma çalışmaları, hipotalamusun preoptik alanında ve sıçanlarda medulla ve ponsta düşük afiniteli (10 nm aralığında K_d) melatonin membran

bağlanma bölgelerinin varlığını göstermiştir (Zisapel ve Laudon 1982; Laudon ve ark. 1988). Yaşlanma hipotalamustaki I-melatonin bağlarının azalması ile ilişkilendirilir (Laudon ve ark. 1988). Melatoninin hipotalamustaki kalsiyum alımı üzerindeki çift yönlü etkileri, farklı zamanlarda belgelenmiştir (Rosenstein ve ark. 1991). Amfetaminlerle tedavi edilmiş genç sıçanlar üzerinde yapılan bir çalışmada, melatoninin, ön hipotalamusta bir dopamin (DA) salınımını inhibe ettiği ve glutamat ve aspartat salınımında önemli bir artış sağladığı bulunmuştur. Orta ve yaşlı sıçanlarda, melatoninin amfetamin ile uyandırılan 2',5'-dihidroksi-adenozin (DDA) salınımı üzerindeki önleyici etkileri korunduğu bulunmuş ancak glutamat ve aspartat salınımı üzerinde hiçbir etkisi bulunamamıştır. Bu sonuçlar, yaşlanma sırasında melatoninin sıçan ön hipotalamusundaki DA salınımı üzerindeki düzenleyici etkisinin korunduğunu, buna karşın DA glutamat etkileşiminin bozulduğunu ileri sürmektedir (Exposito ve ark. 1995).

2.2.7. Hipokampus

Ventrikulus lateralisin kornu temporalenin en alt kısmında konumlanmıştır. 5 cm uzunluğundadır ve denizatına benzerliğinden dolayı bu ismi almıştır. Hipokampus, genellikle hafıza konsolidasyonu ve karar verme ile ilişkilidir, ancak yapısı ve işlevi çok daha karmaşıktır. Hipokampus, hipotalamus, amigdala, mamiller cisim gibi limbik sistem bölgelerinin yanı sıra serebral korteks ile de bağlantıları mevcuttur. Hafıza, duygu oluşumu ve işlenmesi, öğrenme için önemli bir merkezdir. Hipokampusun değişik bölgelerinin uyarılmasıyla öfke ve seks güdüsü gibi farklı davranış sinyalleri oluşmaktadır. Birçok duygusal deneyim hipokampusu az da olsa aktive etmektedir ve hipokampus sinirsel bir çıkış yolu olan forniks vasıtası ile hipotalamus, talamus ve limbik sistemin diğer bölgelerine elektriksel sinyaller göndermektedir. Böylece hipokampus algılanan duysal sinyalleri düzenleyerek gerekli cevap davranışların oluşmasında bir köprü görevi görmektedir. Hipokampusun insanlarda cerrahi girişim ile çift taraflı olarak çıkarılması sonucu bu insanların eski bilgilerini tatminkâr bir şekilde hatırlarken yeni öğretilen bilgileri hatırlayamadıkları tespit edilmiştir (Guyton 2017b).

2.2.7.1. Hipokampus ve Melatonin Reseptörleri

Melatoninin hipokampal nöronlar üzerinde hem inhibe (Hogan ve ark. 2001) hem de aktive edici etkisi raporlanmıştır (Musshoff ve ark. 2002). Melatonin

reseptörlerinin hipokampus üzerindeki dağılımı bölgesel olarak farklılık göstermektedir.

İnsan hipokampusunda MT1 varlığı iyi bilinmektedir (Mazzucchelli ve ark. 1996; Weaver ve Reppert 1997; Savaskan ve ark. 2002). MT1 predominant olarak hipokampusun CA1 bölgesinde bulunmaktadır (Savaskan ve ark. 2002). MT2 reseptörleri CA3 ve CA4 alanlarında daha baskın bulunmaktadır. CA1'in aksonları temel hipokampus çıkış bölgesi olarak değerlendirilirken CA3 ve CA4 piramidal nöronları prefrontal yol aracılığıyla entorinal korteksten gelen glutamerjik eksitatör inputları kayıt eden granüler aksonların ana hedefidirler (Duvernoy ve ark. 2013).

Gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (RT-PCR) çalışmaları sonucunda MT2 reseptörlerinin hipokampusta buldukları ortaya çıkarılmıştır (Reppert ve ark. 1995). Alzheimer hastalığı olan bireylerden alınan hipokampus dokularında MT2 immunoreaktivite yoğunluğunun azaldığı veya hiç gözlemlenmediği bulunmuştur. Kontrol gruplarında MT2'nin imminohistokimyasal olarak hipokampusun piramidal ve granüler nöronlarında lokalize olduğu belirlenmiştir (Savaskan ve ark. 2005).

MT1 reseptörünün aksine, MT2 reseptörleri çoğunlukla hipokampusun CA3 alt alanında, retiküler talamik çekirdek, supraoptik çekirdek, alt kollikulus, substansiya nigra pars retikulata ve ventrolateral periakueduktal gride gözlenmektedirler (Lacoste ve ark. 2015). MT1 ve MT2 reseptörleri ayrıca serebral korteks, serebellar korteks, talamus ve pineal bezin nöronlarında ve glial hücrelerinde dağılmışlardır (Lacoste ve ark. 2015; Ng ve ark. 2017a).

2.2.8. Retiküler Talamik Çekirdek

Retiküler talamik çekirdekte bol miktarda MT2 reseptörü bulunurken, MT1 reseptörü bulunmamaktadır (Lacoste ve ark. 2015). Yakın zamanda yapılan bir çalışmada, uyku düzeninde retiküler talamik çekirdekte melatonin reseptörlerinin de rol oynadığını göstermiştir; burada daha derin uyku aşamalarına geçiş sırasında iğ oluşumunun MT2 reseptör agonisti tarafından desteklendiği bildirilmiştir (Ochoa-Sanchez ve ark. 2011). Bu bulgular, melatonin reseptörlerinin uyku evrelerinde olası farklı roller oynadığını göstermektedir. MT2 reseptörleri, retiküler talamik çekirdeği ve hızlı göz hareketleri olmayan (NREM) uykuda yer alan diğer alanları modüle ederek NREM uykusuna dahil olurken, MT1 reseptörleri hipotalamus gibi beyin

bölgelerine etki ederek REM uykusunda yer almaktadırlar. Bununla birlikte, uyku düzenleme ve homeostazda yer alan farklı bölgelerde MT1 ve MT2'nin oynadığı rolü anlamak için daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır (Ng ve ark. 2017a).

2.2.9. Striatum ve Melatonin Reseptörleri

Nigrostriatal yoldaki dopaminerjik nöronların aniden azalmasının, striatumba hücre dışı melatonin seviyesinde bir yükselme ile ilişkili olduğu bulunmuştur (Lin ve ark. 2013). Kronik melatonin tedavisi striatumdaki dopamin D2 reseptörlerinin afinitesini arttırmaktadır (Hamdi 1998). Melatonin reseptörleri dopaminerjik sistemin striatal nöronlarında ifade edilmektedirler (Uz ve ark. 2005a). Melatoninin, dopaminerjik davranışların ve ruh halinin oluşumu için önemli bir bölge olan striatumdaki 'clock' gen ritimleri (PER1) için gerekli olduğu bildirilmiştir (Imbesi ve ark. 2009). MT1 reseptörleri, melatoninin striatal nöronlardaki 'clock' gen ifadeleri üzerindeki düzenleyici etkisine aracılık etmektedirler (Jilg ve ark. 2005; Von Gall ve ark. 2005). Huntington hastalık sürecinde insan striatumundaki MT1 reseptör sayısında bir azalma gözlenmiştir (Wang ve ark. 2011). Striatumdaki MT2 reseptörlerinin blokajı sonrası antidepresan benzeri bir etki ortaya çıkmıştır. İlginç bir şekilde, striatal MT2 reseptör aktivasyonu ve blokajının bir sonucu olarak hipokampus ve substantia nigra pars kompaktada DA miktarı artmıştır (Noseda ve ark. 2014).

2.2.10. Melatonin ve Dopamin

Melatoninin uyarılmış dopamin salınımı üzerindeki inhibitör etkisi ilk olarak eksite edilmiş dişi sıçan hipotalamik dokusunda in vitro olarak gösterilmiştir (Zisapel ve Laudon 1982). Dopamin salınımının inhibisyonu sıçan ventral hipokampusunda da gözlenmiştir, ancak serebral korteks, serebellum, dorsal hipokampus ve striatumba gözlenmemiştir (Zisapel ve ark. 1982). Bu inhibisyonda melatoninin nanomolar kontraksiyonu önemli olduğu ve bu etkinin milimolar kontraksiyonda maksimum olduğu bildirilmiştir. Uyarılmış dopamin salınımının melatonin tarafından inhibisyonu, uyarılmış sinir sonlanmalarına kalsiyum akışının baskılanması sebebi ile gerçekleştiği gözlenmiştir (Zisapel ve Laudon 1983). İn vivo kanıtlar in vitro bulguları; hipotalamusta melatonin tarafından dopamin salınımının düzenlendiğini desteklemektedir. Tuberoinfundibular ve nigrostriatal dopaminerjik nöronların terminal bölgelerinin dopamin salgılama aktivitesinin göstergesi olarak kullanılan sıçan median eminesteki DOPAC ve DOPA seviyeleri, öğleden sonra geç saatlerde

düşük seviyelerle ve karanlıkta yüksek seviyelerle önemli günlük değişimler sergilemiştir. Öğleden sonra median eminesteki DOPA seviyesinin düştüğü ve eksojen melatoninle tekrar DOPA seviyesinin yükseldiği bildirilmiştir (Shieh ve ark. 1997). Mikrodializ yöntemleri kullanılan in vivo çalışmalarda, melatoninin sıçan mediobazal hipotalamustan amfetamin kaynaklı dopamin salınımı üzerinde inhibe edici bir etkisi olduğu gösterilmiştir. Dopamin salınımının engellenmesi, genç ancak orta yaşlı veya yaşlı sıçanlarda glutamat ve aspartat salınımında önemli bir artışla ilişkilendirilmiştir (Exposito ve ark. 1995). Erkek Suriye hamsterlarında 9 hafta boyunca her gün öğleden sonra melatonin uygulaması, arka hipofizdeki dopamin içeriğinde 5 haftalık tedaviden sonra <math><50\%</math>ye kadar kademeli bir düşüşle sonuçlanmıştır (Alexiuk ve Vriend 1993). Dahası melatonin, dopaminerjik sistem aracılı kokain gibi lokomotor duyarlılaşma ve ödül gibi bağımlılık davranışlarını düzenlemektedir (Sircar 2000; Uz ve ark. 2003; Kurtuncu ve ark. 2004).

Özellikle MT1 reseptörleri dopaminerjik nöronların olduğu bölgelerde (kaudat putamen, dorsomedial kaudat putamen, nukleus akumbens core bölgesi, nukleus akumbens shell bölgesi, olfaktor tuberkül, substantia nigra ve VTA) ifade edilmektedirler (Uz ve ark. 2005b). MT1 reseptörünün aktivasyonu sitozolik Ca^{+2} ve inositolfosfat birikiminin geçici bir yükselmesine neden olmaktadır (Brydon ve ark. 1999; Roka ve ark. 1999).

2.2.11. Bağımlılık ve Melatonin

Nispeten bol miktarda melatonin reseptörleri, çeşitli MSS bölgelerinde, özellikle davranışın kontrolünde yer alan beyin çekirdeklerinde bulunmaktadırlar (Ekmekcioglu 2006). Farelerde yapılan çalışmalara göre kokainle uyarılmış davranışsal hassasiyet melatonin tarafından inhibe edilmiştir (Sircar 2000). İlk kez, melatoninin eksojen uygulamasıyla, morfinin neden olduğu koşullu yer tercihinin ifadesini tersine çevirdiği ve bu etkinin, farelerde merkezi sinir sistemi içerisindeki melatonin MT2 reseptör alt tipi aracılığıyla hafifletilebileceği gösterilmiştir (Han ve ark. 2008). Melatonin, opioitlerin antinosiseptif etkisini arttırmakta ve morfin toleransını tersine çevirmektedir (Raghavendra ve Kulkarni 2000; Song ve ark. 2015). Sistemik veya intratekal melatonin uygulaması, doza bağlı analjezik etkiye sahip olabilmekte ve morfine bağlı hiperaljeziye karşı koyabilmektedir (Wei ve ark. 2012; Zurowski ve ark. 2012). Sabit ışığa maruz kalmak sıçanlarda oral morfin tüketimi

tercihinin artmasına neden olmaktadır (Garmabi ve ark. 2016). Aynı zamanda bu etki etanol ve kokain bağımlılığı olan sıçanlarda da gözlenmektedir, melatonin veya diğer MT1 agonistlerinin uygulanması bu ilaçların tüketimini azaltabileceğini düşündürmektedir (Vengeliene ve ark. 2015; Takahashi ve ark. 2017). Ayrıca, elektif majör abdominal cerrahi veya abdominal histerektomi geçiren hastalarda preoperatif oral melatonin uygulaması, postoperatif dönemlerde daha az toplam morfin kullanımı gerektirmiştir (Caumo ve ark. 2009; Tunay ve ark. 2020). Ayrıca laparoskopik bariatrik cerrahi geçiren obez hastalarda, endojen melatonin seviyeleri ile morfin tüketimi arasında anlamlı bir ters korelasyon tespit edilmiştir (Altunkaya ve ark. 2018). Melatonin ve morfin bağımlılığı birbiri ile ilişkilidir fakat bu ilişkinin altında yatan mekanizma kesin olarak henüz bilinmemektedir (Hemati ve ark. 2020). Morfin uygulaması MT2 miktarını etkilemezken MT1 miktarını azaltmaktadır (Fan ve ark. 2017). Ayrıca MT1, PKA aktivitesi ve CREB fosforilasyonunda daha fazla azalma ile cAMP sinyal transdüksiyon kaskadının inhibisyonu yoluyla morfinden kaynaklanan toleransın geliştirilmesinde önemli bir rol oynamaktadır (Witt-Enderby ve ark. 2003). Sabit ışığa maruz kalan ratların daha şiddetli bağımlılık gösterdiği ve daha şiddetli bir morfin yoksunluk sendromuna sahip olduğu bulunmuştur (Garmabi ve ark. 2016). Melatonin, morfin toleransında önemli bir rol oynayan NMDA reseptörünün aktivasyonunu azaltmaktadır (Song ve ark. 2015). Ayrıca melatoninin, nitrik oksit sentazlarının baskılanması ve NO seviyesinde azalma yoluyla tolerans indüksiyonunu ve morfine bağımlılığı azalttığı bildirilmiştir (Raghavendra ve Kulkarni 2000). Melatonin, morfin toleransı ile ilgili genlerin ifadelerini düzenlemektedir (Hosseinzadeh ve ark. 2018; Anderson 2019; Cheng ve ark. 2019; Tan ve Reiter 2019).

2.3. Ödül Sistemi

2.3.1. Ödül Sisteminde Yer Alan Yapılar ve Organizasyonu

Beyin ödül sistemi ile ilgili ilk çalışmalar 1950'li yılların sonunda McGill Üniversitesi'nde Olds ve Milner tarafından yapılmıştır (Olds ve Milner 1954). Vücut içine alınan bağımlılık yapıcı maddeler bağımlılık yapmasının yanında; hafızayı, belleği, karar verme aşamalarını ve ödül sistemini de etkilemektedirler. Ödül sistemi ventral tegmental alanı, ventral striatumu (nükleus akumbens ve olfaktor tüberkül), dorsal striatumu, prefrontal korteksi, anterior singulat korteksi, insular korteksi, hipokampusu, hipotalamusu, talamusu, subtalamik nükleusu, globus pallidusu, ventral

pallidumu, parabrakial nükleusu, amigdalyı ve diğer bölgeleri kapsamaktadır (Richard ve ark. 2013; Grall-Bronnec ve Sauvaget 2014; Berridge ve Kringelbach 2015; Yager ve ark. 2015). Ödül sisteminde özellikle, mezokortikolimbik isimli bir yolak görev almaktadır ve mezolimbik yolak ve mezokortikal yolların birleşiminden oluşmaktadır. Dopamin bu yolların ana nörotransmitteridir. Mezolimbik yolak VTA'dan, amigdala, hipokampus ve ventral striatuma uzanmaktadır. Mezokortikal yolak ise VTA'dan prefrontal kortekse uzanmaktadır. Opioidler, ventral striatuma dopamin nörotransmitterinin salınmasını artırmaktadır. VTA'da GABA'erjik ve dopaminerjik nöronlar bulunmaktadır ve bunların yarısından fazlasını dopaminerjik nöronlar oluşturmaktadır. GABA'erjik nöronlar dopaminerjik nöronları inhibe etmektedirler (Margolis ve ark. 2012; Tritsch ve ark. 2012).

Bağımlılık oluşmasında rol alan başka bir yol ise nigrostriatal yoldur. Bu yol substantia nigra pars kompakta (SNc) ve dorsal striatuma bağlanmaktadır. Farmakolojik ve fizyolojik çalışmalardan elde edilen bilgiler doğrultusunda beyin ödül sisteminde pek çok yapı görev alsa da mezolimbik yolak ödül sisteminin temelini oluşturmaktadır (Wise 2004b; Krebs ve ark. 2012).

Özet olarak nükleus akumbens (NAc) ödül merkezi olarak kabul edildiği için ve mezolimbik yolak vasıtasıyla VTA'dan NAc'e dopaminerjik nöron proksiyonu gerçekleştiği için mezolimbik yolak bağımlılık oluşumunda görev alan ana yoldur.

2.4. Dopamin

2.4.1. Dopamin ve Dopamin Reseptörleri

Dopamin vücutta hipotalamustan salgılanan bir hormon; merkezi sinir sisteminde dopamin reseptörlerini aktive eden katokolamin bir nörotransmitterdir. Hormonal görevi prolaktini baskılamaktır. Merkezi sinir sisteminde ilk olarak 1959 yılında keşfedilmiştir (Carlsson 1959). Yetişkin beyninde dopaminerjik nöronlar; mezensefalonda, diensefalonda ve olfaktor bulbusta en çok ise mezensefalunun ventral bölgesinde, VTA ve retrorubral alanda bulunmaktadırlar (Björklund ve Dunnett 2007).

Dopaminerjik nöronlar, dört ana yolda gözlenmektedirler. Bu yollar: Mezolimbik, nigrostriatal, mezokortikal ve tuberinfundibular sistem yollarıdır. Dopaminerjik nöronlar yollara göre gruplandırılmıştır; A8 (tuberinfundibular yolak), A9 (nigrostriatal yolak), A10 (mezolimbik ve mezokortikal yolak) (Andén ve

ark. 1964). Bu nöronlar MSS'de gönüllü hareket, beslenme, etkileme, ödüllendirme, uyku, dikkat, çalışma belleği ve öğrenme gibi çeşitli fonksiyonlarda görev almaktadırlar. Dopaminin; periferde koku almayı, retinal süreci, hormonal düzenlemeyi, kardiovasküler fonksiyonları, sempatik düzenlemeyi, immün sistem ve renal fonksiyonlar gibi önemli fizyolojik rolleri mevcuttur (Snyder ve ark. 1970; Missale ve ark. 1998; Sibley 1999; Carlsson ve ark. 2001; Iversen ve Iversen 2007). VTA'daki dopaminerjik nöron gövdeleri ödül ve besin alımı gibi aktivitelerle uyarılmaktadırlar ve bu uyarı mezolimbik merkezde bulunan yapılara akson ucunda dopamin salgılanmasına yol açmaktadır (Johnson ve ark. 1992; Phillips ve ark. 1993; Wilson ve ark. 1995; Bassareo ve Di Chiara 1999; Bassareo ve ark. 2007).

D₁, D₂, D₃, D₄ ve D₅ olmak üzere 5 tane dopamin reseptörü bulunmaktadır. Ödülde etkinliği baskın olan reseptörün D₂ reseptörü olduğu bildirilmiştir. Klonlanmış DA reseptörlerinin primer yapısının analizi, bunların yedi transmembran etki alanı GPBR üyeleri olduğunu ve yapısal özelliklerinin çoğunu paylaştığını ortaya koymuştur (Probst ve ark. 1992).

2.4.2. Dopamin ve Ödül

Limbik, kortikal, striatal ve orta beyin bölgelerinde DA nörotransmisyonunun blokajı, yemek yeme, besin alımı ve ilaç bağımlılığında arttırılan ödül duygusunu azalttığı belirtilmiştir (Wise 2004b). VTA'daki DA hücrelerinin aktivasyonu terminal bölgeden DA salınımı ile sonuçlanmaktadır (Johnson ve ark. 1992; Phillips ve ark. 1993; Wilson ve ark. 1995; Bassareo ve Di Chiara 1999; Bassareo ve ark. 2007). Besin alımı ve ilaç bağımlılığı VTA'daki dopaminerjik nöronları aktive etmektedir.

DA açısından zengin VTA'dan mezolimbik yolun bir kısmını içeren ventral striatuma giden yolun subkortikal projeksiyonun önemli bir ödül yolu olduğu bildirilmiştir (Björklund ve Dunnett 2007). Ventral striatum, bazal gangliyonların ana girdi bölgesidir; putamen ve NAC'den oluşmaktadır. Putamen, koku alma tüberkülü ve primatlarda lateral koku alma yoluna bitişik ön delikli boş bölgenin rostrolateral kısmıdır (Heimer ve ark. 1999). Striatuma ek olarak dopaminerjik nöronlardaki projeksiyon amigdala ve hipokampus dahil limbik yapılara yansımaktadır. Bu mezolimbik yol, ödül temelli öğrenme, motivasyonun merkezindedir ve duygu ile eylem arasında önemli bir ara bağlantı sağlamaktadır (Mogenson ve ark. 1980; Salamone ve Correa 2012; Chong ve Husain 2016).

Kronik bağımlılıkta dopamin miktarında hızlı artış görülürken, çekilme ile dopamin miktarı büyük ölçüde azalmaktadır. Bu da prefrontal lob ve singulat girusta işlev bozukluğuna neden olmaktadır. Bu işlev bozuklukları frontal lob fonksiyonlarının değişmesine ve doğal maddelere duyarlılığın azalmasına neden olmaktadır (Volkow ve ark. 2004).

2.4.3. Nükleus Akumbens

Mezolimbinik ve mezokortikal yolaklar bağımlılık yapıcı maddeler tarafından aktivitesi artırılan nörokimyasal bağlantılardır. Mezolimbinik yolak, mediyal ön beyin demeti boyunca orta beynin VTA'sına bağlanmaktadır (Wise ve ark. 1995; Philibin ve ark. 2011). Mezolimbinik yolak sisteminin ilaçların, nikotin, afyon, alkol, kontrolsüz oyun oynama gibi bağımlılıkların ödüllendirici etkileriyle önemli bir ilişki içerisinde olduğu bilinmektedir. Bu yol büyük ölçüde miyelinli liflerden oluşmaktadır (Koob ve Bloom 1988). NAC mezolimbinik yolakta yer alan ve ödülleme nörofizyolojisinde önemli bir rol alan anatomik yapıdır. NAC limbik bilgiyi almakta ve bu bilgiyi ekstrapiramidal motor sistem vasıtasıyla motivasyona dönüştürmektedir. Diğer limbik sistemde görev alan yapılar (prefrontal korteks, hipotalamus, amigdala, hipokampus, lateral hipotalamus, septum, bazal gangliyonlar gibi) NAC çalışmasının modülasyonu ile ödül sisteminde yer almaktadırlar (Koob ve Bloom 1988).

Maddeye tekrar erişimde ventral pallidum, korteks, NAC ve mediyal prefrontal bölgelerin sorumlu tutulduğu bilinirken (McFarland ve Kalivas 2001), özlem duygusundan bazolateral amigdala ve prefrontal korteksin daha baskın olarak sorumlu olduğu bilinmektedir (Everitt ve Wolf 2002).

Opioit bir maddenin alınmasıyla VTA'daki GABA'erjik inhibitör aktivite baskılanır, mezolimbinik yolak vasıtasıyla NAC'daki dopamin miktarı artmaktadır (Johnson ve North 1992).

2.4.3.1. Nükleus Akumbensin Bağımlılıkla ilişkisi

NAC çoğunlukla GABA'erjik nöronları barındırmaktadır ve bu GABA'erjik medium spiny nöronlar (MSN) ventral pallidum ve VTA bölgelerine projeksiyon yapmaktadırlar. Opioit alınmasıyla başlayan süreçte NAC'da dopamin seviyesi artar ve bu artış ile nükleus akumbensten VTA ve ventral palliduma GABA salınımı inhibe olmaktadır (Bourdelaıs ve Kalivas 1990; Caillé ve Parsons 2006). Son çalışmalar

VTA'dan dopaminerjik nöronları projeksiyonunun yanında glutamerjik nöronlarında nükleus akumbens medial shell bölgesine projeksiyon yapıldığını göstermiştir (Poulin ve ark. 2018). Nükleus akumbens VTA, limbik ve paralimbik bölgelerden gelen dopaminerjik projeksiyonları düzenler, MSN aracılığıyla, ödül döngüsünde görevli olan ventral pallidum, VTA ve hipotalamusa çıktı olarak göndermektedir (Kelley 2004; Sesack ve Grace 2010; Dong ve Nestler 2014). NAC çıktılarının düzenlenmesi internöronlar tarafından yapılmaktadır (Tepper ve ark. 2010). Önemli bir internöron olan fast spiking internöronları (FSIs) NAC ve MSN nöronlarının aktivitesini düzenleyerek bağımlılık ve davranışlarını düzenlemektedirler. NAC, FSIs orta büyüklükte GABA'erişik nöronlardır MSN ile monosinaptik bağlantıları mevcuttur (Qi ve ark. 2016; Wright ve ark. 2016). Bu NAC iç döngüsünde FSIs iyi bir düzenleyicidir ve NAC MSN'inde aksiyon potansiyelinin başlatılması, düzenlenmesi ve sinaptik eksitasyonun kontrolünde görev üstlendiği bildirilmiştir (Hu ve ark. 2014; Xue ve ark. 2014; Yu ve ark. 2017).

Hipokampus ve hipotalamusta melatonin reseptörleri bulunmaktadır ve bu reseptörler melatonin aracılı öğrenme, bellek ve hipotalamik işlevlerde etkili olmaktadır. Bağımlılık sürecinde ise melatonin reseptörlerinin değişip değişmediği bilinmemektedir. Bu çalışmada ise morfin bağımlılığı oluşturulmuş sıçanlarda hipokampus ve hipotalamus dokularında melatonin reseptörlerinin gen ifade düzeylerinin nasıl değiştiğinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Deney Hayvanları

Projede ön görülen deneysel aşamalar Necmettin Erbakan Üniversitesi Deneysel Tıp Uygulama ve Araştırma Merkezi (KONÜDAM) ve N.E.Ü. Sinirbilim Uygulama ve Araştırma Merkezi (NESAM) laboratuvarlarında gerçekleştirilmiştir. Necmettin Erbakan Üniversitesi Deneysel Tıp Uygulama ve Araştırma Merkezi Müdürlüğü'nden hayvan deneyleri yerel etik kurul onayı alınmıştır. Projede opioit bağımlılığı modeli olarak morfin bağımlılığı oluşturulmuştur. Bütün deney gruplarında 300-350 gr ağırlığında yetişkin 36 erkek Wistar ırkı sıçanlar kullanılmıştır. Hayvanlar 7 gün boyunca 22 ± 1 oda sıcaklığında, 12 saat aydınlık/karanlık olacak şekilde barındırılmıştır. Hayvanların yemleri standart (pellet) yemi şeklinde, suları ise özel şişelerinde musluk suyu olarak verilmiştir. Testler, birbirini izleyen günlerde sabah 09.00-12.00 arasında yapılmıştır. Hayvanların test ortamına alışabilmesi için teste tabi tutulmadan yaklaşık yarım saat önce sessiz odaya alınmışlardır. Bu çalışmada kullanılan morfin hidroklorür (Firma adı) N.E.Ü. Tıp Fakültesi Hastanesi Başhekimliği'nden, nalokson ise Merc Firması'ndan (Kat no:N7758) temin edilmiştir.

3.1.1. Morfin Bağımlılığı ve Morfin Çekilmesi Test Uygulamaları

Literatürde morfin bağımlılığı modelinin yer aldığı oldukça fazla araştırma bulgusu yer almaktadır. Bunların çoğunluğunda 10 mg/kg morfin subkutan yolla günde bir ya da iki defa uygulanarak, 6. veya 7. gün ya da 10. günde bağımlılığın geliştiğini belirlemek için tek doz "mü opioit antagonist" olarak nalokson periton içi yolla uygulanmaktadır (Morfin yoksunluk durumunun etkilerinin test edildiği bazı araştırmalarda ise 3 ya da 6 günlük morfin pelletleri uygulanmasını takiben naltrekson ya da nalokson gibi mü antagonist bir molekül periton içi yolla enjekte edilerek deneysel kurgular oluşturulmaktadır). Bu çalışmalara göre; morfin yoksunluğu oluşturan nalokson uygulanmasından hemen sonraki süreçte hayvanların davranış özellikleri kaydedilmiş ve morfin çekilmesi olarak da adlandırılan morfin yoksunluk bulguları skorlanmıştır. Morfin çekilmesinin belirgin davranış bulguları oluşturması, uygulanan bağımlılık yönteminin etkin olduğunun göstergesi olarak kabul edilmiştir (Akbarian ve ark. 2001; Ozawa ve ark. 2001; Chen ve ark. 2014). Gellert ve Holtzman tarafından ilk defa 1978'de ortaya konan bu yöntem günümüzde de etkin bir model olarak kullanılmaktadır.

Kardeş ya da yakın akraba olmayan yetişkin erkek sıçanlar arasından randomize olarak seçilen hayvanlar üç gruba ayrılmıştır. Morfin ve nalokson gruplarındaki sıçanlara 6 gün boyunca 10 mg/kg/gün dozunda morfin subkutan yolla enjekte edilmiştir. Bu uygulamanın amacı proje deney protokollerindeki morfin bağımlılığının konfirme edilmiş olmasıdır. Morfin bağımlılığı, morfin infüzyonu sonunda 7. gün periton içi 1 mg/kg nalokson uygulanarak morfin yoksunluğu bulgularının ortaya çıkmasıyla belirlenmiştir.

1. grup (kontrol grubu, n=12): Hayvanlara 6 gün boyunca 10 mg/kg/gün dozunda subkutan ve 7. gün sabahında tek doz periton içi %0.9'luk NaCl çözeltisi (SF) infüzyonu yapılmıştır. Hayvanlar davranış yönünden izlenmiştir.

2. grup (test morfin bağımlılığı grubu, n=12): Hayvanlara 6 gün boyunca 10 mg/kg/gün dozunda subkutan morfin infüzyonu yapılmıştır, 7. günün sabahında tek doz SF periton içi yolla enjekte edilerek hayvanlar davranış yönünden izlenmişlerdir.

3. grup (morfin bağımlılığı+nalokson grubu, n=12): Hayvanlara 2. gruptaki 6 günlük işlemlere ilaveten 7. gün tek doz olarak mü opioit antagonist olan nalokson 1 mg/kg dozda periton içi yolla enjekte edilmiştir. Her üç gruptaki hayvanlar nalokson ve SF enjeksiyonlarından 1.5 saat önce ve enjeksiyonlardan 0.5 saat sonra tartılmış ve vücut ağırlık değişim oranları belirlenmiştir.

Bütün hayvanlar enjeksiyonlardan hemen sonra 25 cm çapta ve 65 cm yükseklikteki pleksiglas şeffaf silindir gözlem kafeslerine alınmışlardır ve hayvanların davranışları izlenmiştir. Enjeksiyondan sonraki 30 dk boyunca aşağıdaki tabloda belirtilen morfin yoksunluk davranış ve belirtileri manuel olarak skorlanmıştır. Her hayvan için sonuçta morfin çekilme skoru belirlenmiş ve nalokson enjekte edilmeyen hayvanlarla karşılaştırılmıştır. Bu deneysel dizayn birçok araştırmada kullanılmış ve aynı doz ve uygulamalarda morfin bağımlılığının geliştiği nalokson uygulamasıyla belirlenmiştir (Almela ve ark. 2012; Pintér-Kübler ve ark. 2013; Chen ve ark. 2014; Kaka ve ark. 2014; Raghav ve ark. 2018).

3.1.1.1. Modifiye Gellert ve Holtzman Skalası

Aşağıdaki tabloda morfin bağımlılığı ve nalokson uygulaması sonrasında davranış skorlamasında kullanılmış parametreler yer almaktadır. Bulgular tek yönlü

varyans analiziyle değerlendirilmiştir. Sonraki aşamalar ise aşağıdaki sıra ile gerçekleştirilmiştir.

Tablo 3. 1. Modifiye Gellert ve Holtzman Skalası.

Davranış veya bulgu	Skor	Davranış veya bulgu	Skor
Her bir %1'lik vücut ağırlık kaybı	1	Yuvarlanma hareketi sayısı	2
Anormal postür sayısı	3	Şahlanma sayısı	1
Gözlerini kısma sayısı	1	Sıçrama sayısı	2
Tıksırma sayısı	1	Her bir defekasyon (diyare) sayısı	2
Islak köpek silkelmesi 3-4 defa	4	Diş çıtırdatma sayısı	2

3.1.2. Deneyin Sonlandırılması ve Dokuların Toplanması

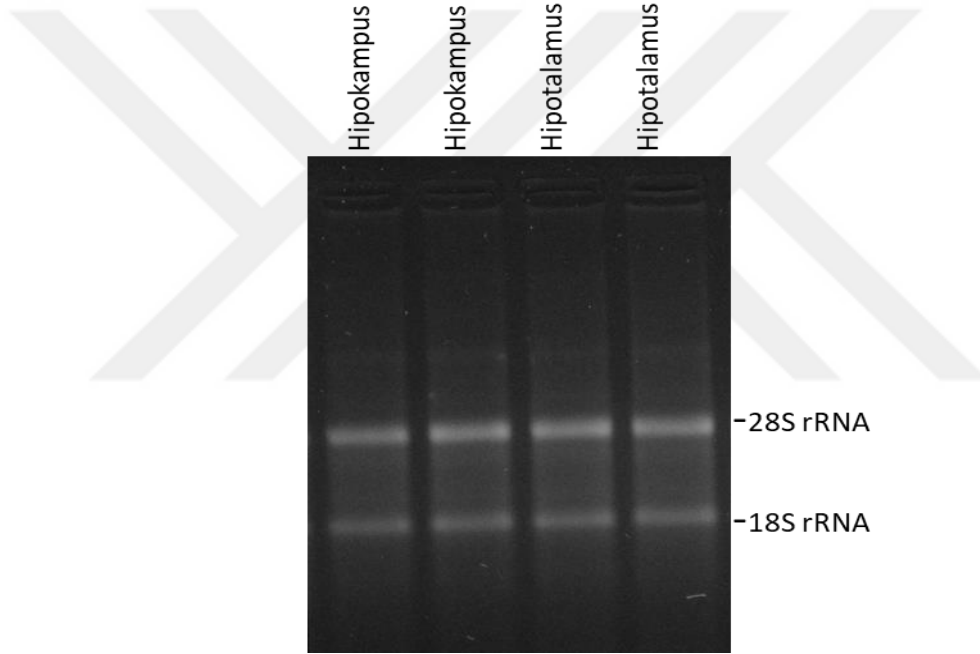
30 dk boyunca davranışlar incelendikten ve skora yapıldıktan sonra kontrol (K; n=12), morfin (M; n=12) ve morfin+naloksan (M+N; n=12) gruplarına ait sıçanların beyin dokuları hızla çıkarılarak hipokampus ve hipotalamus bölgeleri diseke edilmiş ve sıvı azotta hemen dondurularak gen ekspresyon analizleri için -80 °C'de saklanmıştır.

3.1.2.1. Doku Örneklerinden Total RNA İzolasyonu

Gen düzeyinde ekspresyon değerlendirilmesi için hipotalamus dokularından TRIzol yöntemi ile RNA izolasyonu gerçekleştirilmiştir. Doku örneklerinin homojenizasyon işlemi 1000 µl TRIzol içerisinde gerçekleştirilmiştir. Homojenizatlar oda sıcaklığında 5 dk inkübasyona bırakılmış, daha sonra 200 µl kloroform eklenerek ve kısa bir vorteks işleminin ardından tekrar oda sıcaklığında 15 dk inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra örnekler 12000 g'de 15 dk +4 °C'de santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrası RNA'yı içeren üst faz yeni ependorf tüplere aktarılmış ve üzerlerine 500 µl izopropanol eklenmiştir. Daha sonra ependorflar birkaç kez alt üst edilmiş ve 10 dk oda sıcaklığında inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrası örnekler 10 dk 12000 g'de +4 °C'de santrifüj edilerek oluşan RNA peletinin dibe çökmesi sağlanmıştır. Süpernatant kısmı atılıp peletin üzerine 1 ml %75'lik etanol eklendikten sonra ependorflar alt üst edilmiştir. Yıkama işleminin ardından 12000 g'de 10 dk +4 °C'de santrifüj yapılmış ve süpernatant kısım uzaklaştırılmıştır. Oluşan pelet 5-10 dk oda sıcaklığında kurutulduktan sonra 50 µl nükleaz free su ile çözündürülmüştür. Elde edilen RNA örnekleri kullanılmaya kadar -80 °C'de saklanmıştır.

3.1.2.2. Total RNA Örneklerinin Kalite Kontrolü

Total RNA örneklerinin konsantrasyonu ve kalitesinin tayini spektrofotometrik ve agaroz jel elektroforez yöntemi ile kontrol edilmiştir. Fenol, protein ve genomik DNA (gDNA) kontaminasyonlarını belirlemek amacıyla nanodrop cihazına 1 µl RNA örneğinden yüklenip, A260/A280 ve A260/230 oranları değerlendirilmiştir. UV ölçümleri A260/A280 için $2\pm 0,1$ ve A260/A230 için 2,0-2,4 arasında olan RNA örnekleri analizlerde kullanılmıştır. 1 µg/10µl konsantrasyonundaki RNA örnekleri kalitesinin belirlenmesi amacıyla %1'lik agaroz jel elektroforez sonrası değerlendirilmiştir. Tüm örneklerin qRT-PZR analizlerinde kullanılabilir kalitede olduğu tespit edilmiştir (Şekil 3.2.).



Şekil 3.1. Hipokampus ve hipotalamus dokularına ait örnek jel elektroforezi.

3.1.2.3. Total RNA Örneklerinin GDNA Kontaminasyonunun Temizlenmesi

Olası gDNA kontaminasyonunun giderilmesi amacıyla DNase-I (Thermo Scientific; #EN0521) enzim reaksiyonu üretici firmanın talimatlarına göre uygulanmıştır. Bu protokole göre 2 µg total RNA, DNase-I reaksiyon karışımı ile 20 µl total hacime tamamlanmıştır. RNA örnekleri, üzerine 1U/ µl DNase-I enziminden 2 µl konularak 37 °C'de 30 dk bekletilmiştir. Reaksiyon durdurulması amacıyla 2 µl 50 mM EDTA ilave edilerek 65 °C 10 dakika inkübe edilmiştir.

3.1.2.4. Primer Diyaznı

Kantitatif Gerçek zamanlı PZR (qRT-PZR) analizinde kullanılan Mtnr1a, Mtnr1b, Mtnr1a/Mtnr1b ile referans (PGK1, RPL13A ve GAPDH) genlerine ait primerler, IDT PrimerQuest (<https://eu.idtdna.com/site>) programı kullanılarak tasarlandı veya literatürden alındı (Tablo 3.2.).

Tablo 3. 2. qPZR analizlerinde kullanılan genlerin primer dizileri

Gen	Primer dizileri (5'→3')	Uzunluk	Referans*
MT1	ATGTCAGCGAGCTTCTCAAC GGATGTCCACCACGATAGTAAAG	126 bç	<u>NM_053676.2</u>
MT2	GGCGCTGACGTCTATACTTAAC CGATCCCGGTGATGTTGAATAC	118 bç	<u>NM_053676.2</u>
MT1/MT2	GGCGCTGACGTCTATACTTAAC CGATCCCGGTGATGTTGAATAC	116 bç	<u>NM_053676.2/AF130341.1</u>
PGK1	ATGCAAAGACTGGCCAAGCTAC AGCCACAGCCTCAGCATATTC	104 bç	Seol ve ark. 2011
GAPDH	TGAACGGGAAGCTCACTGG TCCACCACCCTGTTGCTGTA	307 bç	Lallemant ve ark. 2009
RPL13A	GGATCCCTCCACCCTATGACA CTGGTACTTCCACCCGACCTC	132 bç	Langnaese ve ark. 2008

*Bu çalışmada dizayn edilen primerleri için ilgili GenBankası erişim kodu.

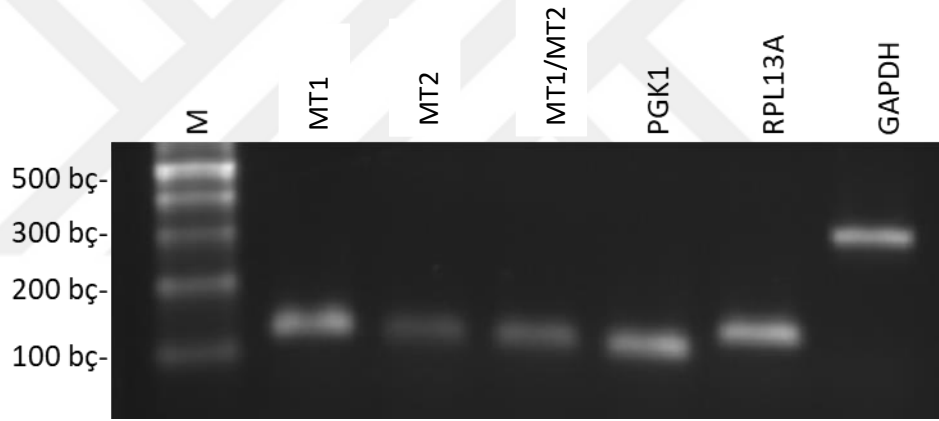
3.1.2.5. Reverze Transkriptaz (RT) Reaksiyonu

Kalite kontrolü yapılmış olan RNA örneklerinden üretici firmanın (Bio-Rad iScript™ cDNA Synthesis Kit #170-8891, A.B.D.) protokolü kullanılarak cDNA sentezlenmiştir. Kısaca, 1 µg/20µl total RNA'dan tek zincir cDNA üretilmesi için 4 µl 5X iScript reaksiyon karışımı ve 1 µl Reverz Transkriptaz 1 µg RNA üzerine ilave edilmiştir. Ardından reaksiyon karışımı ddH₂O ile 20 µl'ye tamamlanmıştır. Daha sonra 25°C'de 5 dk, 42°C'de 30 dk ve 85°C'de 5 dk protokolü uygulanarak cDNA sentezi gerçekleştirilmiştir. Elde edilen cDNA örnekleri daha sonra kullanılmak üzere -20 °C'de saklanmıştır.

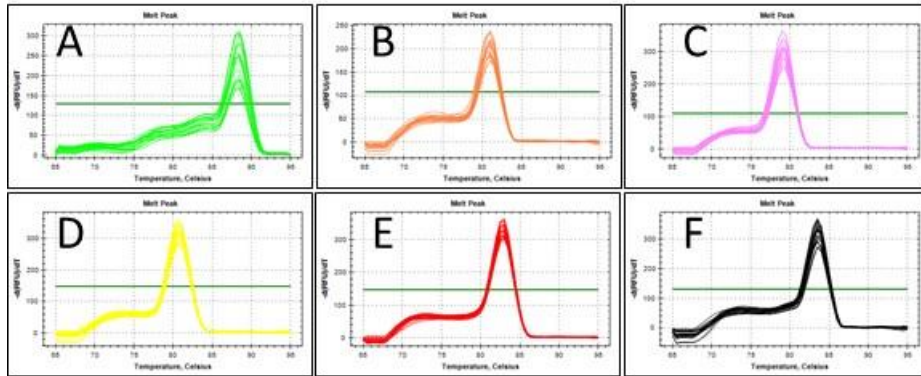
3.1.2.6. Gerçek Zamanlı Kantitatif Polimeraz Zincir Reaksiyonu (qRT-PZR)

Hedef ve referans genlerin ekspresyon kantitasyon analizi, gerçek zamanlı PZR cihazı (Bio-Rad CFX Connect Gerçek Zamanlı PZR Sistemi) kullanılarak yapılmıştır. Reaksiyon için çift iplikli DNA'ya bağlanan bir boya olan SyberGreen kullanılmıştır. Kısaca, 2X SyberGreen master mskten 10 µl, forward primerden 5 pmol, reverse

primerden 5 pmol (Tablo 3.2.), 2 µl cDNA ve toplam hacim 20 µl olacak şekilde ddH₂O ile tamamlanarak polimeraz zincir reaksiyonu gerçekleştirilmiştir. Reaksiyonun ısı profili, +95 °C 10 dk, 40 döngü (95 °C 30 sn, 60 °C 30 sn, 72 °C 30 sn) olacak şekilde ayarlanmıştır. Ayrıca 95 °C 1 dakika ısıtılıp, 55 °C'ye düşürülen ısı 95 °C'ye kadar tekrar kademeli olarak arttırılarak *melting curve* (erime eğrisi) analizi gerçekleştirilmiştir. Gerçek zamanlı PZR cihazından elde edilen Ct (eşik döngüsü) değerleri kayıt edilmiştir. Gerçek zamanlı PZR'den elde edilen ürünlerin doğru ürün olduğunu teyit etmek amacıyla ürünler %2'lik agaroz jelde 120 voltta 30 dk yürütülmüş ve gözlenmiştir (Şekil 3.2.). Melting curve analizlerinde de tüm PZR ürünlerinin spesifik olduğu ve herhangi bir diğer genom bölgesinin yükseltgenmediği tespit edilmiştir (Şekil 3.3.).



Şekil 3.2. Çalışmada kullanılan genlere ait qRT-PZR ürünlerinin jel görüntüsü. M; 100 bç DNA markörü.



Şekil 3.3. MT1 (A), MT2 (B), MT1/MT2 (C), PGK1 (D), RPL13A (E) ve GAPDH (F) genlere ait melting curve analiz eğrileri.

3.2. İstatiksel Metot

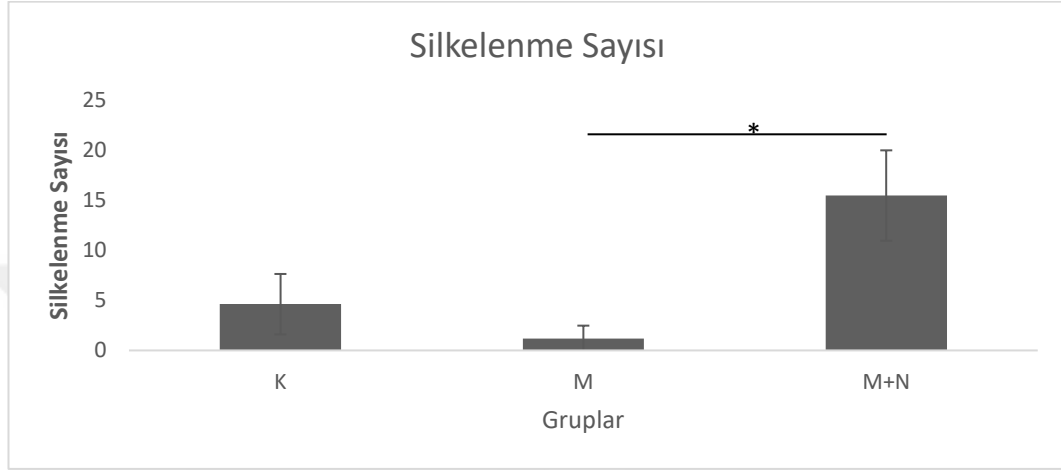
Hayvan davranışlarının analizinde sayısal değişkenler değişkenin tipine göre ANOVA ya da poisson regresyon yöntemi kullanılarak karşılaştırılmıştır. SAS Edition 9.4 programı kullanılmıştır. $p < 0,05$ anlamlı olarak kabul edilmiştir.

Gen ekspresyon verilerinin analizinde öncelikle çalışmaya konu olan bütün genlerin ekspresyon düzeylerini ifade eden Ct değerleri PGK1, RPL13A ve GAPDH referans genlerin Ct değerleri ile normalize edilerek $2^{(-\Delta Ct)}$ değerleri tespit edilmiştir. Kontrol ve deneme grupları arasında gen ekspresyonu farklılıkları $2^{(-\Delta \Delta Ct)}$ yöntemi ile tespit edilmiştir. Kontrol ve deneme grupları arasında gen ifadesinde gözlenen farklılıklar kat artışı olarak "RT² Profiler™ Pcr Array Data Analysis" olarak isimli web tabanlı program (<http://pcrdataanalysis.sabiosciences.com/pcr/arrayanalysis.php>) kullanılarak hesaplanmıştır. Gruplar arası karşılaştırma "RT² Profiler™ PCR Array Data Analysis" programında bulunan "Student t-testi" analizi ile istatistiksel olarak değerlendirilmiştir. Bulgular kat artışı olarak ifade edilmiştir. Aynı zamanda, bu genlere ait $2^{(-\Delta Ct)}$ değerleri tek yönlü varyans analizi ile gruplar arasında karşılaştırılmıştır.

4. BULGULAR

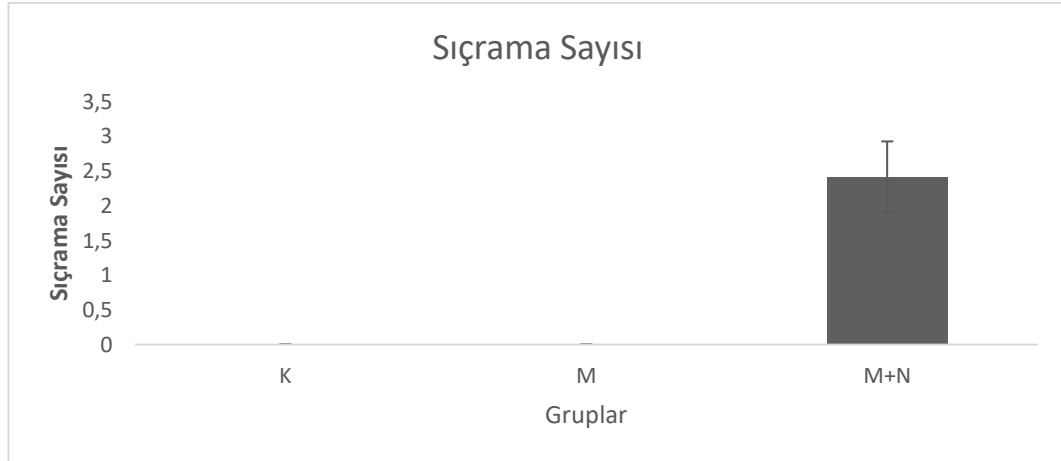
4.1. Davranış Testi Bulguları

Enjeksiyon sonrası yarım saat içerisinde gruplara göre davranış skorlaması uygulandı. Davranış bulguları manuel olarak değerlendirildi ve bulgular $AO \pm SH$ değerleri olarak hesaplandı.



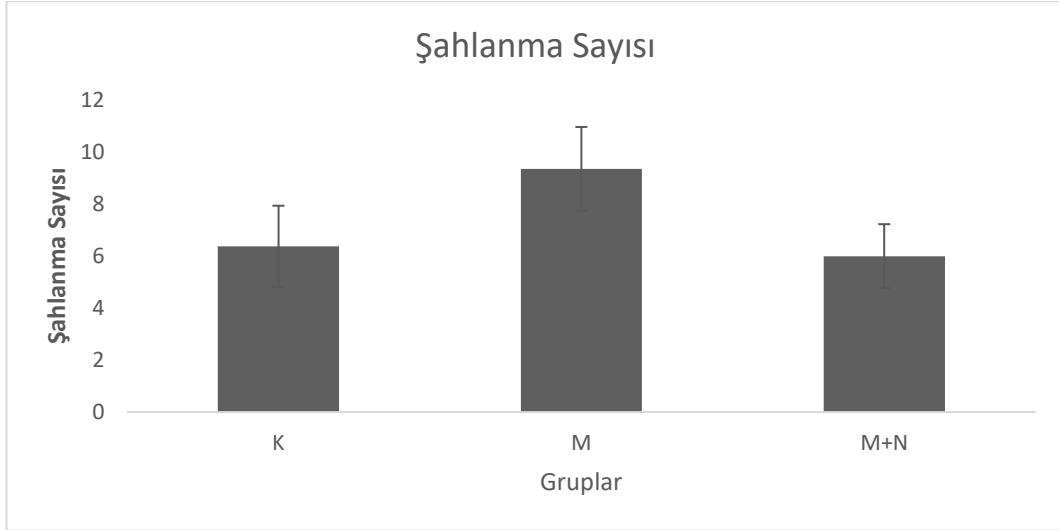
Resim 4. 1. Kontrol (K), Morfin (M) ve Morfin + nalokson (M+N) gruplarındaki silkelenme sayıları. * $p < 0,05$ (Morfin grubuyla karşılaştırıldığında).

Islak köpek silkelenmesi davranışı değerlendirildiğinde, nalokson uygulanması morfin grubuyla karşılaştırıldığında anlamlı düzeyde artışa yol açtı ($p < 0,05$, Resim 4.1.). Kontrol grubu ve diğer gruplarda ise anlamlı bir değişiklik ortaya çıkmadı.



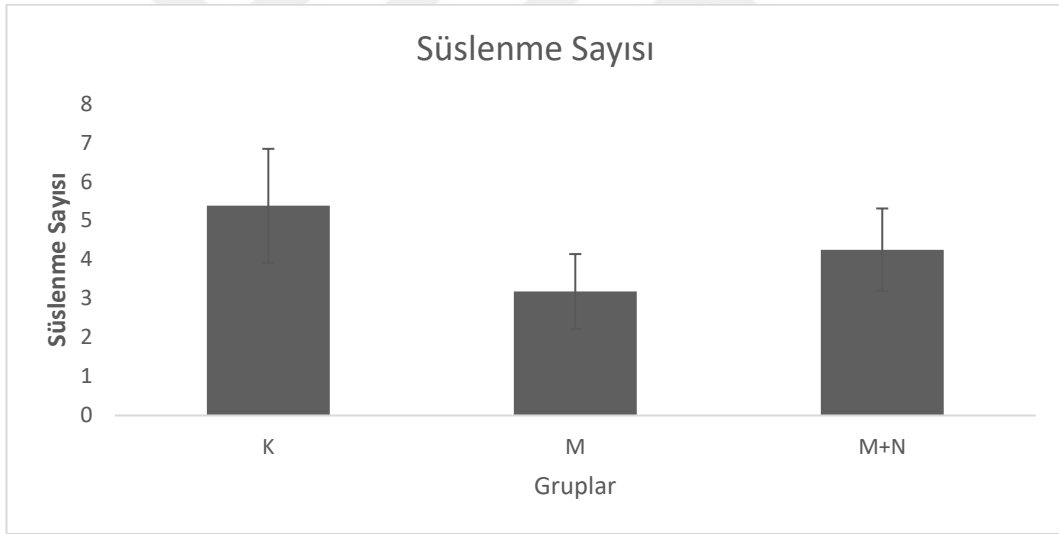
Resim 4. 2. Kontrol (K), Morfin (M) ve Morfin + nalokson (M+N) gruplarındaki sıçrama sayıları.

Kontrol ve morfin gruplarında hayvanlar hiçbir sıçrama davranışı sergilemediler. Buna karşın M+N grubunda $2,42 \pm 0,51$ değerinde sıçrama davranışı gözlemlendi (Resim 4.2.).



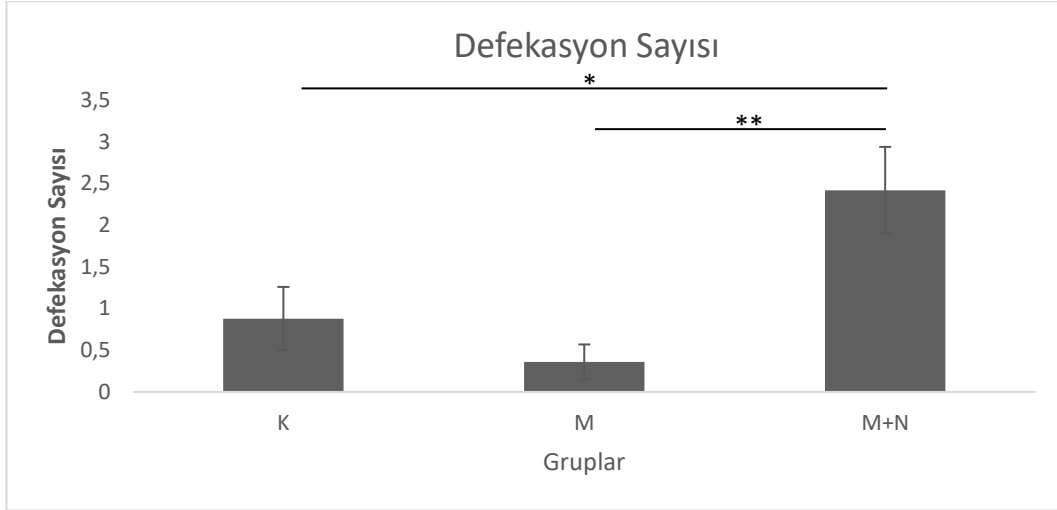
Resim 4. 3. Kontrol (K), Morfin (M) ve Morfin + nalokson (M+N) gruplarındaki şahlanma sayıları.

Şahlanma davranışlarında gruplar arasında anlamlı değişiklikler ortaya çıkmadı ($p>0,05$, Resim 4.3.).



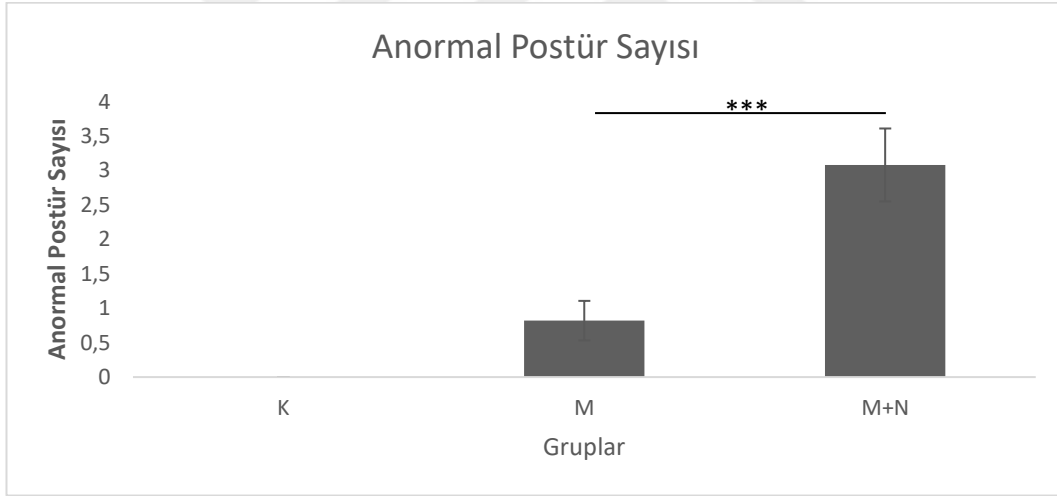
Resim 4. 4. Kontrol (K), Morfin (M) ve Morfin + nalokson (M+N) gruplarındaki süslenme sayıları.

Süslenme davranışlarında gruplar arasında anlamlı değişiklikler ortaya çıkmadı ($p>0,05$, Resim 4.4.).



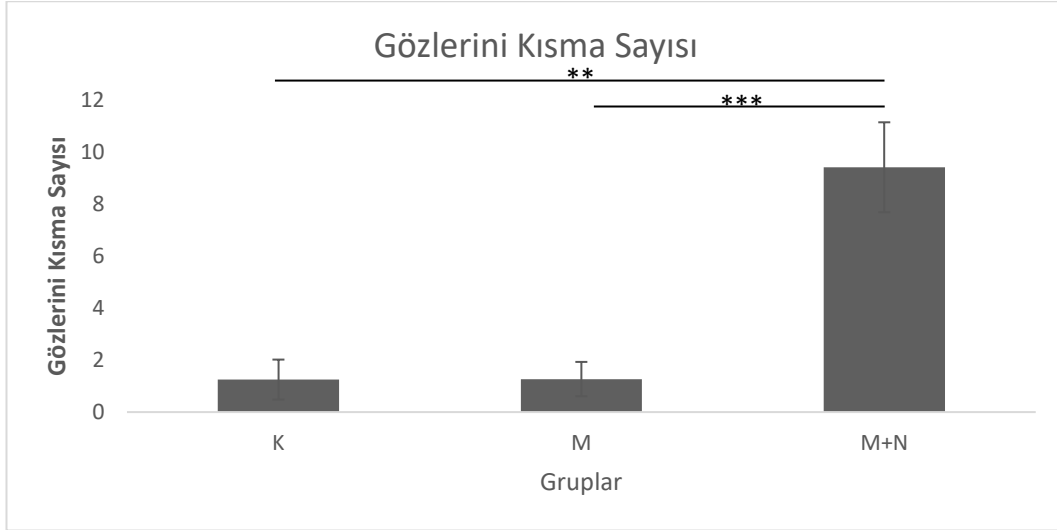
Resim 4. 5. Kontrol (K), Morfin (M) ve Morfin + nalokson (M+N) gruplarındaki defekasyon sayıları. * $p < 0,05$ (Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında), ** $p < 0,01$ (Morfin grubuyla karşılaştırıldığında).

Defekasyon sayısı değerlendirildiğinde M+N grubu değerleri kontrole ($p < 0,05$) ve M grubuna göre belirgin olarak yüksekti ($p < 0,01$, Resim 4.5.).



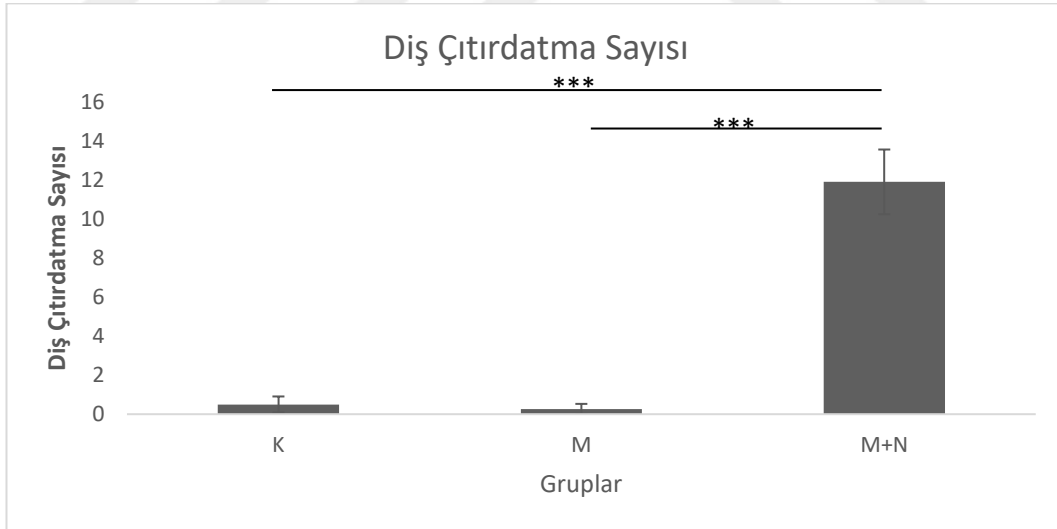
Resim 4. 6. Kontrol (K), Morfin (M) ve Morfin + nalokson (M+N) gruplarındaki anormal postür sayıları. *** $p < 0,001$ (Morfin grubuyla karşılaştırıldığında).

Anormal postür sayısı değerlendirildiğinde, nalokson uygulanması morfin grubuyla karşılaştırıldığında anlamlı düzeyde artışa yol açtı ($p < 0,001$). Kontrol grubu ve diğer gruplar arasında ise anlamlı bir değişiklik ortaya çıkmadı (Resim 4.6.).



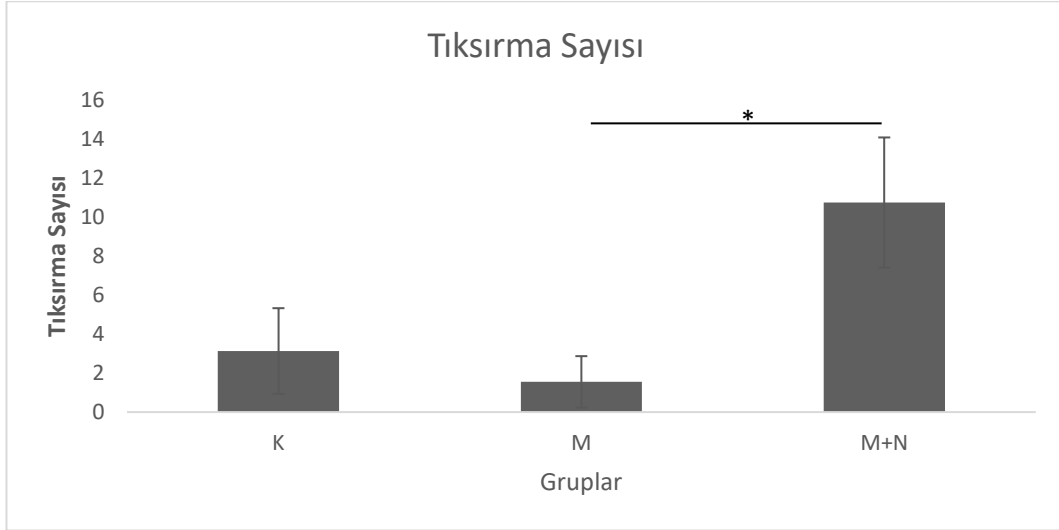
Resim 4. 7. Kontrol (K), Morfin (M) ve Morfin + nalokson (M+N) gruplarındaki gözlerini kısma sayıları. ** $p<0,01$ (Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında), *** $p<0,001$ (Morfin grubuyla karşılaştırıldığında).

Gözlerini kısma sayıları karşılaştırıldığında M+N grubunda hem K grubuna ($p<0,01$) hem de M grubuna kıyasla oldukça anlamlı artış gözlemlendi ($p<0,001$, Resim 4.7.).



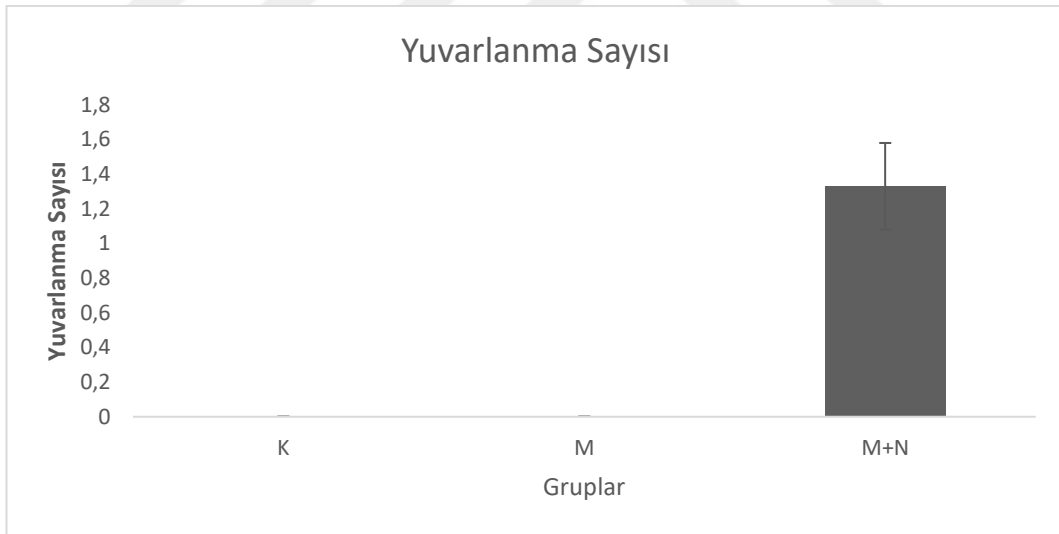
Resim 4. 8. Kontrol (K), Morfin (M) ve Morfin + nalokson (M+N) gruplarındaki diş çıtırdatma sayıları. *** $p<0,001$ (Kontrol grubuyla ve morfin grubuyla karşılaştırıldığında).

Diş çıtırdatma sayıları karşılaştırıldığında M+N grubunda hem K grubuna hem de M grubuna kıyasla oldukça anlamlı artış ortaya çıktı $p<0,001$, Resim 4.8.).



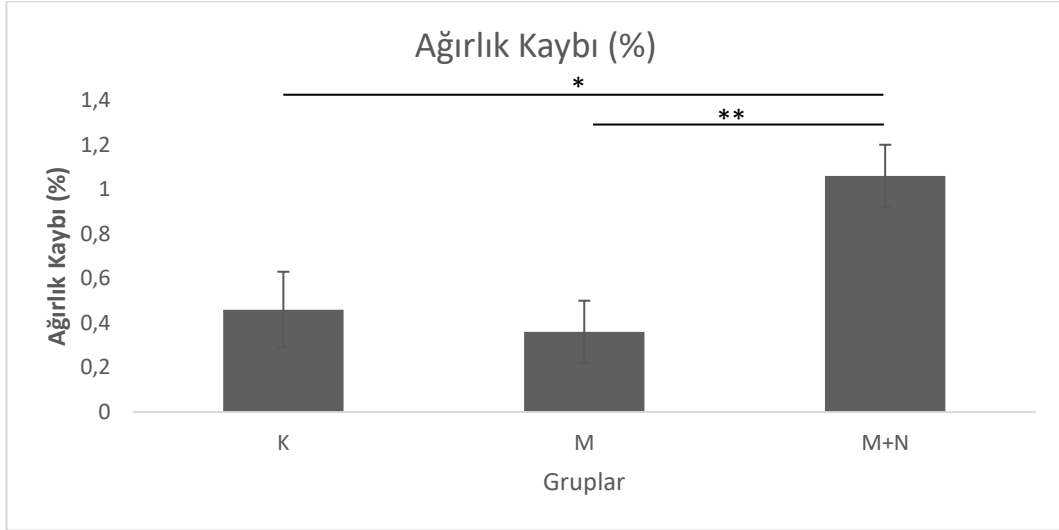
Resim 4. 9. Kontrol (K), Morfin (M) ve Morfin + nalokson (M+N) gruplarındaki tıksırma sayıları. * $p<0,05$ (Morfin grubuyla karşılaştırıldığında).

Tıksırma sayısı değerlendirildiğinde, nalokson uygulanması morfin grubuyla karşılaştırıldığında anlamlı düzeyde artışa yol açtı ($p<0,05$). Kontrol grubu ve diğer gruplar arasında ise anlamlı bir değişiklik ortaya çıkmadı (Resim 4.9.).



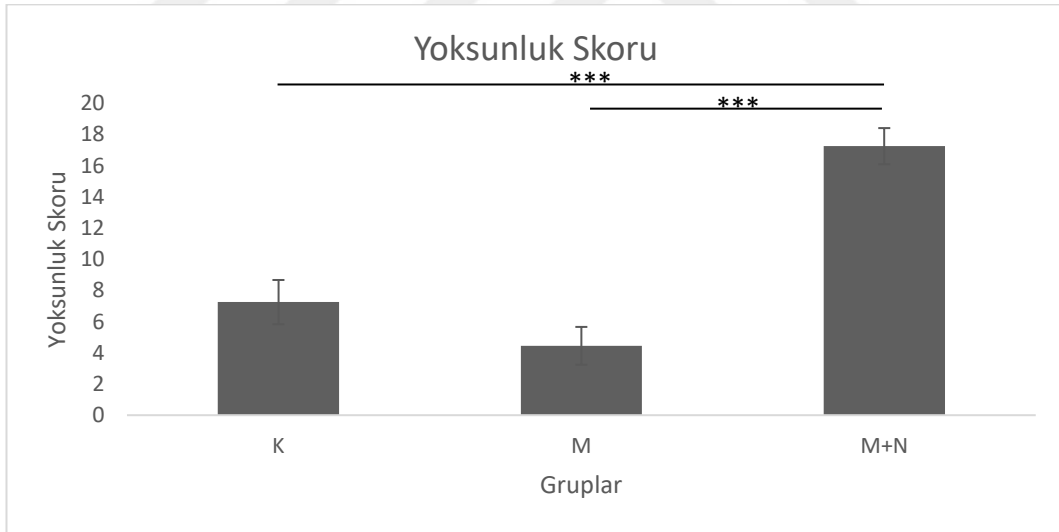
Resim 4. 10. Kontrol (K), Morfin (M) ve Morfin + nalokson (M+N) gruplarındaki yuvarlanma sayıları.

Kontrol ve morfin gruplarında hayvanlar hiçbir yuvarlanma davranışı sergilemediler. Buna karşın M+N grubunda $1,33\pm 0,25$ değerinde sıçrama davranışı gözlemlendi (Resim 4.10.).



Resim 4. 11. Kontrol (K), Morfin (M) ve Morfin + nalokson (M+N) gruplarındaki ağırlık kaybı % sayıları. * $p < 0,05$ (Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında), ** $p < 0,01$ (Morfin grubuyla karşılaştırıldığında).

Ağırlık kaybı yüzdesi değerlendirildiğinde M+N grubu değerleri kontrol grubuna ($p < 0,05$) ve M grubuna göre belirgin olarak yüksekti ($p < 0,01$; Resim 4.11.)



Resim 4. 12. Kontrol (K), Morfin (M) ve Morfin + nalokson (M+N) gruplarındaki yoksunluk skor sayıları. *** $p < 0,001$ (Kontrol grubuyla ve morfin grubuyla karşılaştırıldığında).

Yoksunluk skoru değerleri karşılaştırıldığında M+N grubunda hem K grubuna hem de M grubuna kıyasla oldukça anlamlı artış ortaya çıktı ($p < 0,001$, Resim 4.12.).

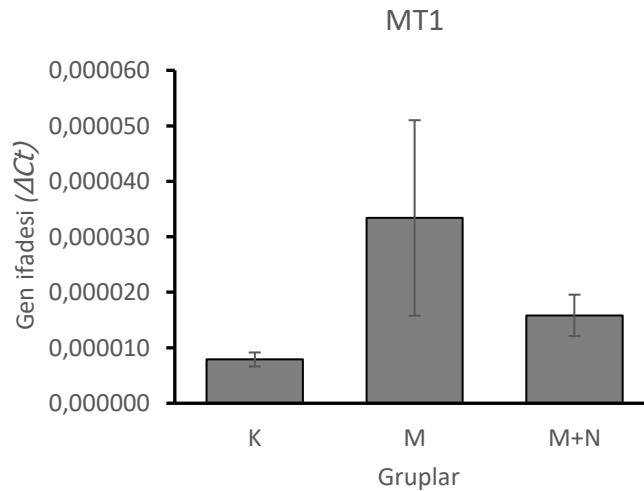
Tablo 4. 1. Ön çalışma deneyleri sonunda elde edilen morfin yoksunluk bulguları (Ortalama \pm Standart hata değerleri).

Davranış	Kontrol (K)	Bağımlılık (M)	Bağımlılık+Nalokson (M+N)
Sikelenme Sayısı	4,63 \pm 3,02	1,18 \pm 1,30	15,50 \pm 4,52
Sıçrama Sayısı	0,00 \pm 0,00	0,00 \pm 0,00	2,42 \pm 0,51
Şahlanma Sayısı	6,38 \pm 1,56	9,36 \pm 1,61	6,00 \pm 1,23
Süslenme Sayısı	5,38 \pm 1,46	3,18 \pm 0,96	4,25 \pm 1,06
Defekasyon Sayısı	0,88 \pm 0,38	0,36 \pm 0,21	2,42 \pm 0,52
Anormal Postur Sayısı	0,00 \pm 0,00	0,2 \pm 0,29	3,08 \pm 0,53
Gözlerini Kısma Sayısı	1,25 \pm 0,77	1,27 \pm 0,66	9,42 \pm 1,73
Diş Çıtırdatma Sayısı	0,50 \pm 0,41	0,27 \pm 0,26	11,92 \pm 1,66
Tıksırma Sayısı	3,13 \pm 2,20	1,55 \pm 1,32	10,75 \pm 3,34
Yuvarlanma Sayısı	0,00 \pm 0,00	0,00 \pm 0,00	1,33 \pm 0,25
Ağırlık kaybı (%)	0,46 \pm 0,17	0,36 \pm 0,14	1,06 \pm 0,14
Yoksunluk Skoru	7,25 \pm 1,42	4,45 \pm 1,21	17,25 \pm 1,16

4.2. Melatonin Reseptörleri Gen İfadeleri Bulguları

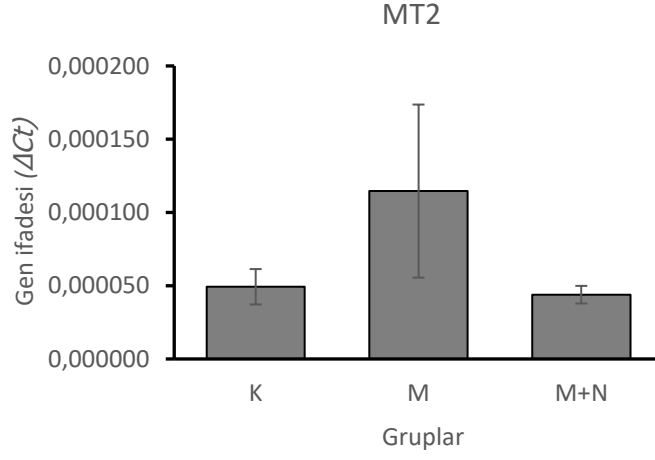
Hipotalamus ve hipokampus dokularında yer alan MT1, MT2 ve MT1/MT1 heteromer reseptör gen ifadeleri (Δ Ct) ve kat artışları ($\Delta\Delta$ Ct değerlendirildi ve tek yönlü varyans analizi ile hesaplandı.

4.2.1. Hipokampustaki Melatonin Reseptörleri Gen Ekspresyonları ve Kat Artışı Bulguları



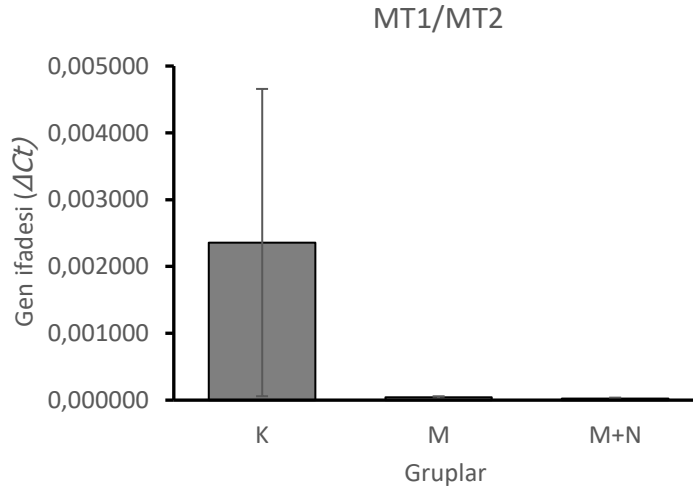
Resim 4. 13. Kontrol (K), Morfin (M) ve Morfin + nalokson (M+N) gruplarına ait hipokampus dokularında MT1 gen ekspresyon düzeyleri. Gen ifadesi (Δ Ct) düzeylerinin tek yönlü varyans analizi ile karşılaştırılması.

MT1 gen ifadesi karşılaştırıldığında K, M ve M+N grupları arasında anlamlı değişiklikler ortaya çıkmadı ($p>0,05$, Resim 4.13.).



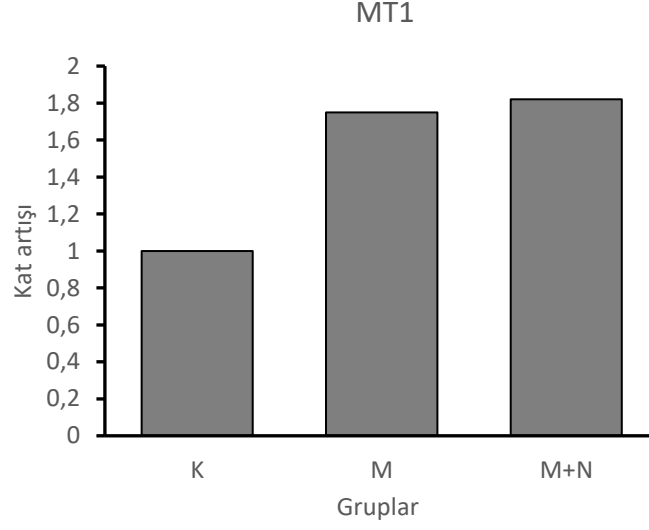
Resim 4. 14. Kontrol (K), Morfin (M) ve Morfin + nalokson (M+N) gruplarına ait hipokampus dokularında MT2 ekspresyon düzeyleri. Gen ifadesi (ΔCt) düzeylerinin tek yönlü varyans analizi ile karşılaştırılması.

MT2 gen ifadesi düzeyleri incelendiğinde K, M ve M+N gruplarında anlamlı değişiklikler ortaya çıkmadı ($p>0,05$, Resim 4.14.). Bununla birlikte morfin grubundaki her iki reseptör ifadesinde istatistiksel olarak anlamlı olmayan hafif artışlar gözlemlendi.



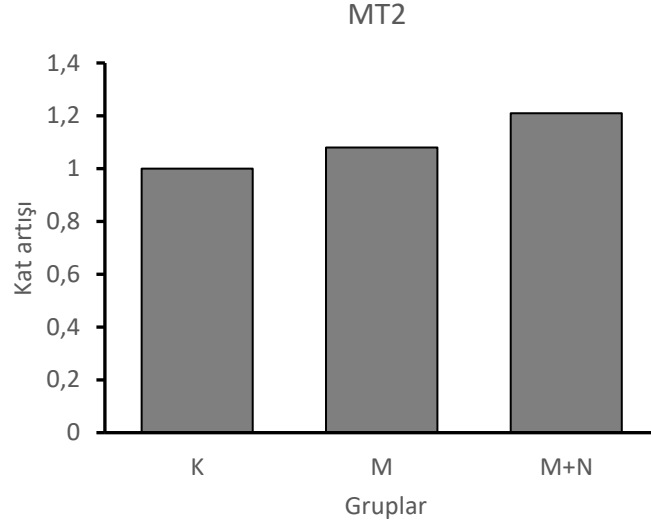
Resim 4. 15. Kontrol (K), Morfin (M) ve Morfin + nalokson (M+N) gruplarına ait hipokampus dokularında MT1/MT2 heteromer ekspresyon düzeyleri. Gen ifadesi (ΔCt) düzeylerinin tek yönlü varyans analizi ile karşılaştırılması.

MT1/MT2 heteromer gen ifadesi miktarı incelendiğinde de gruplar arasında anlamlı değişiklikler ortaya çıkmadı ($p>0,05$, Resim 4.15.).



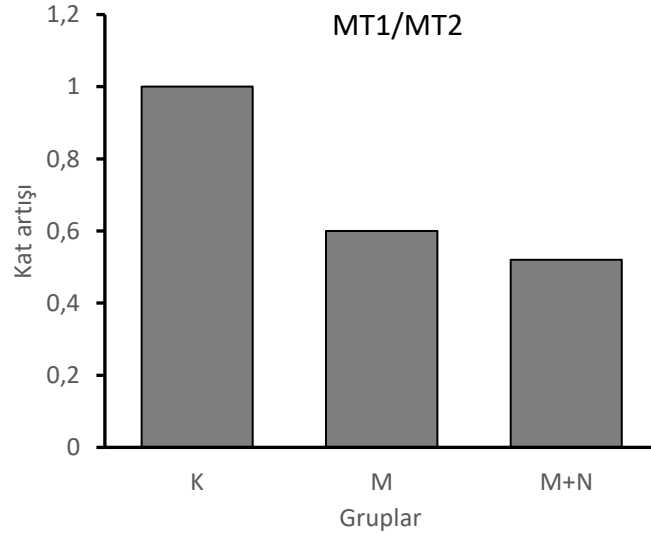
Resim 4. 16. Kontrol (K), Morfin (M) ve Morfin + nalokson (M+N) gruplarına ait hipokampus dokularında MT1 ekspresyon düzeylerinin karşılaştırılması. Gen ifadesi ($\Delta\Delta Ct$) düzeyleri kat artışı olarak belirtilmiştir.

Melatonin reseptörlerinin gen ifade düzeylerinin değerlendirilmesiyle ilgili olarak kontrol grubuna göre diğer grup bulguları normalize edildi ve kat artışı değerleri kontrol gruplarıyla karşılaştırıldı. Bu kapsamda hipokampus dokularındaki MT1 mRNA kat artışı değerleri karşılaştırıldığında K, M ve M+N gruplarında birbirine benzer değerler ortaya çıktı ve istatistiksel olarak anlamlı değişiklik oluşmadığı gözlemlendi ($p>0,05$, Resim 4.16).



Resim 4. 17. Kontrol (K), Morfin (M) ve Morfin + nalokson (M+N) gruplarına ait hipokampus dokularında MT2 ekspresyon düzeylerinin karşılaştırılması. Gen ifadesi ($\Delta\Delta Ct$) düzeyleri kat artışı olarak belirtilmiştir.

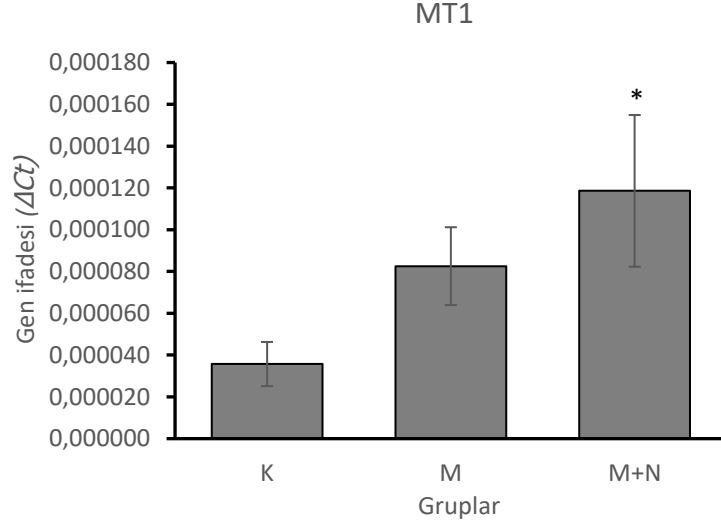
MT1 ile benzer şekilde, hipokampustaki MT2 mRNA kat artışı değerleri karşılaştırıldığında K, M ve M+N grupları arasında anlamlı değişiklikler ortaya çıkmadı ($p>0,05$, Resim 4.17.).



Resim 4. 18. Kontrol (K), Morfin (M) ve Morfin + nalokson (M+N) gruplarına ait hipokampus dokularında MT1/MT2 heteromer ekspresyon düzeylerinin karşılaştırılması. Gen ifadesi ($\Delta\Delta Ct$) düzeyleri kat artışı olarak belirtilmiştir.

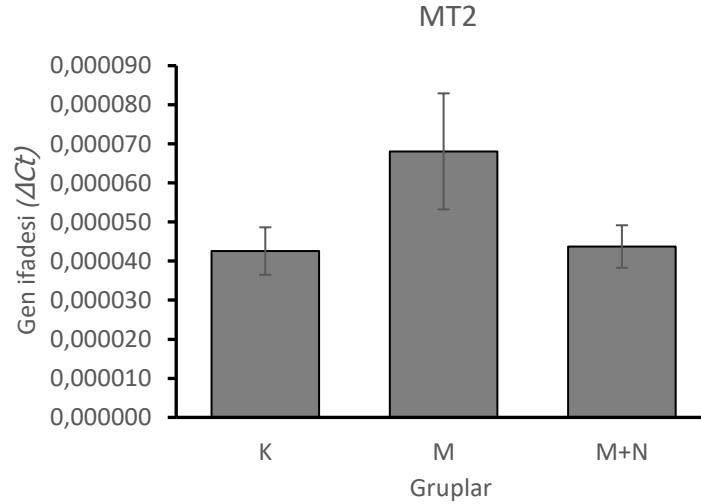
Hipokampus MT1/MT1 mRNA kat artışı değerleri de yine gruplar arasında farklı değildi ($p>0,05$, Resim 4.18.).

4.2.2. Hipotalamustaki Melatonin Reseptörleri Gen Ekspresyonları ve Kat Artışı Bulguları



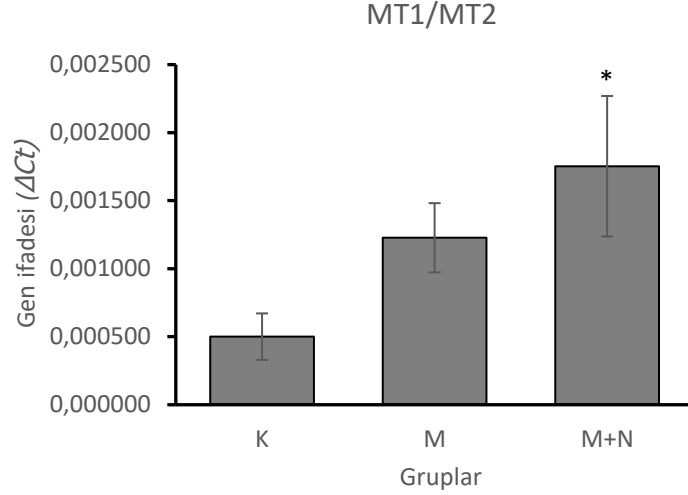
Resim 4. 19. Kontrol (K), Morfin (M) ve Morfin + nalokson (M+N) gruplarına ait hipotalamus dokularında MT1 ekspresyon düzeyleri. Gen ifadesi (ΔCt) düzeyleri tek yönlü varyans analizi ile karşılaştırılmıştır * $p < 0,05$ (Kontrol grubuyla karşılaştırılmıştır).

Hipotalamus dokusundaki MT1 gen ifade düzeyi incelendiğinde M+N grubu değerinin kontrol grubuna kıyasla daha istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha yüksek olduğu belirlendi ($p < 0,05$, Resim 4.19.). Diğer grup karşılaştırmalarında anlamlı değişiklik oluşmadı.



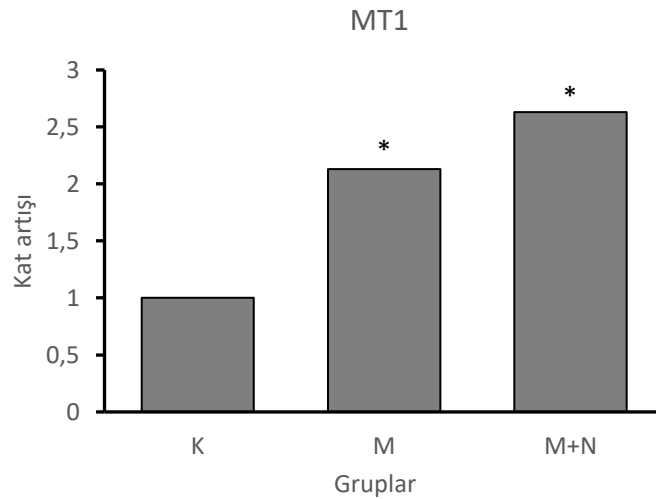
Resim 4. 20: Kontrol (K), Morfin (M) ve Morfin + nalokson (M+N) gruplarına ait hipotalamus dokularında MT2 ekspresyon düzeyleri. Gen ifadesi (ΔCt) düzeyleri tek yönlü varyans analizi ile karşılaştırılmıştır.

Hipotalamustaki MT2 gen ifade düzeyi değerleri tüm gruplarda birbirine paralel seyrettiği için istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmedi ($p>0,05$, Resim 4.20.).



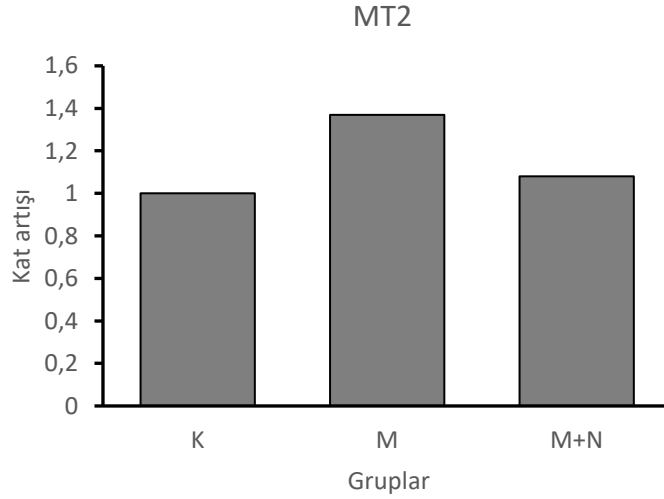
Resim 4.21. Kontrol (K), Morfin (M) ve Morfin + nalokson (M+N) gruplarına ait hipotalamus dokularında MT1/MT2 heteromer ekspresyon düzeyleri. Gen ifadesi (ΔCt) düzeyleri tek yönlü varyans analizi ile karşılaştırılmıştır * $p<0,05$ (Kontrol grubuyla karşılaştırılmıştır).

Melatonin heteromer reseptörü MT1/MT2 gen ifade miktarı karşılaştırıldığında morfin + nalokson grubunda anlamlı artış ortaya çıktı. ($p<0,05$, Resim 4.21.).



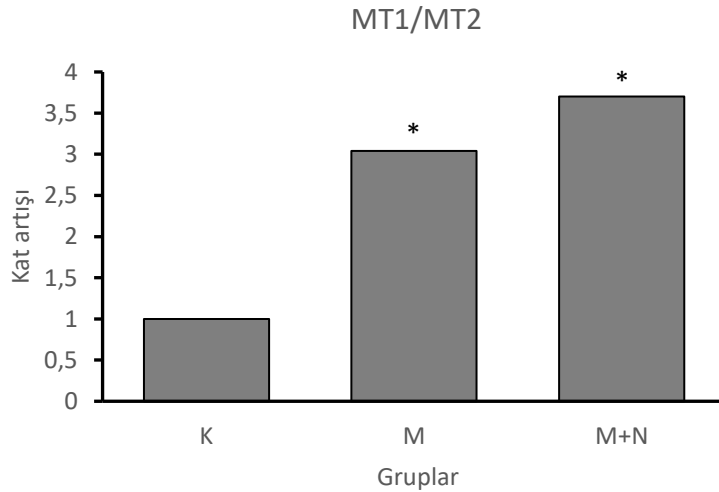
Resim 4.22. Kontrol (K), Morfine (M) ve Morfin + nalokson (M+N) gruplarına ait hipotalamus dokularında MT1 ekspresyon düzeylerinin karşılaştırılması. Gen ifadesi ($\Delta\Delta Ct$) düzeyleri kat artışı olarak belirtilmiştir. M ve M+N grupları * $p<0,05$ (Kontrol grubuyla karşılaştırılması)

Hipotalamus dokularından izole edilen MT1 reseptör iadesi kat artışı bulguları karşılaştırıldığında, morfin ve morfin + nalokson gruplarında kontrolle karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artış gözlemlendi ($p < 0,05$, Resim 4.22.).



Resim 4. 21. Kontrol (K), Morfine (M) ve Morfin + nalokson (M+N) gruplarına ait hipotalamus dokularında MT2 ekspresyon düzeylerinin karşılaştırılması. Gen ifadesi ($\Delta\Delta Ct$) düzeyleri kat artışı olarak belirtilmiştir.

Hipotalamustaki MT2 reseptör ifade düzeyleri arasında anlamlı bir değişiklik belirlenmedi ($p > 0,05$, Resim 4.23.).



Resim 4.24. Kontrol (K), Morfine (M) ve Morfin + nalokson (M+N) gruplarına ait hipotalamus dokularında MT1/MT2 heteromer ekspresyon düzeylerinin karşılaştırılması. Gen ifadesi ($\Delta\Delta Ct$) düzeyleri kat artışı olarak belirtilmiştir. M ve M+N grupları $*p < 0,05$ (Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında).

Hipotalamus MT1/MT2 heteromer reseptör ifade kar artışı değerleri analiz edildiğinde morfin ve morfin + nalokson gruplarında kontrol grubuyla karşılaştırıldığında anlamlı düzeyde artış gözlendi ($p<0,05$, Resim 4.24.).



5. TARTIŞMA

Bağımlılık bir maddenin tedavi amacı olmadan veya amaçsız bir şekilde alınması ve alınan maddeye karşılık tolerans gelişmesi ile kişinin yaşamında problemler oluşturmasına rağmen alınan madde dozunun artırılması ve madde dozu azaltıldığında veya tamamen bırakıldığında yoksunluk belirtilerinin ortaya çıkma durumudur. Alınan opiyatlarla, beyin ödül merkezlerinin uyarılması madde alımında pekiştirici etkilere neden olmaktadır (Nestler 2001).

Bağımlı bir şekilde madde alımının çok önceki yıllarda sadece keyif ve zevk için yapıldığı tahmin edilmekteydi. Bununla birlikte, yapılan yeni araştırmalar sonucunda psikolojik ve fizyolojik bağımlılık terimleri ortaya çıkmıştır. Farklı psikolojik sebeplerle ve istekle madde alınmaya başlandığı süreç bize psikolojik bağımlılığı ifade ederken, ileri aşamalarda tolerans gelişimi ile alınan madde miktarının artırılması fizyolojik bağımlılığı tanımlamaktadır. Opioidlere tolerans ve bağımlılığın gelişmesinde serotonin, norepinefrin, dopamin, GABA, adenozin, uyarıcı amino asitler, nitrik oksit, asetilkolin, oksitosin ve vazopressin gibi çok çeşitli nörotransmitterler ve nöromodülatörler rol oynamaktadır (Bhargava 1994). Bağımlılık sürecinin altında yatan nöronal mekanizmalar üzerine araştırmalar yoğun olarak devam etmektedir. Sinirbilim araştırmalarının artmasıyla birlikte bilim insanları madde bağımlılığının moleküler, genetik ve hücrel mekanizmalarını daha ileri düzeyde anlamaya başlamışlardır.

Morfin analjezi amacıyla sıklıkla kullanılmaktadır fakat hiperaljeziye ve toleransa sebep olmaktadır. Kullanımı sırasında meydana gelen bu yan etkilere çözüm bulabilmek amacıyla birçok çalışma yapılmıştır ve hala yapılmaktadır (Kalso ve ark. 2004). Ancak yoğun araştırmalara rağmen morfin bağımlılığını tedavi etmek için çok az sayıda etkili tedavi yöntemi bulunabilmiştir. Opiyat bağımlılığı tedavisinde kullanılan bazı ilaçlar metadon, LAAM, naltrekson, buprenorfin ve beraber kullanılan buprenorfin ve naloksondur (Uğurlu ve ark. 2012).

Nalokson, bazı ülkelerde Narcan ismi ile satılmakta olan opiyat blokörüdür. Nalokson, mü opioid reseptöründe agonistik aktiviteden yoksun olduğundan, kullanımı güvenli bir ilaç olarak kabul edilir (Van Dorp ve ark. 2007).

Melatonin özellikle sirkadiyen ritmin düzenlenmesinde görev alan önemli bir nöroendokrin sinyal molekülüdür (Waldhauser ve Dietzeld 1985). Melatoninin bağımlılık üzerine etkisinin altında yatan mekanizmalar büyük oranda gizemini korumaktadır. Hayvanlar üzerinde uygulanan farklı bağımlılık modelleri ve morfin bağımlılığı modellemeleri bu mekanizmaların açığa çıkarılması açısından önem taşımaktadır.

İlk olarak benzodiazepin reseptörleri ile yapılan çalışmada melatoninin morfinin tolerans gelişimini ve bağımlılığını tersine çevirdiği gösterilmiştir (Raghavendra ve Kulkarni 1999). Farelerde uygulanan bir başka çalışmada ise melatonin ile morfinin neden olduğu toleransın tersine çevrildiği bildirilmiştir (Naidu ve ark. 2003). Dolaşımdaki melatonin seviyesini azaltan sabit ışığa maruz kalmanın, sıçanlarda oral morfin tüketim tercihinin artmasına neden olduğunu; bu hayvanların daha yüksek morfin tüketimi ve daha şiddetli morfin yoksunluk sendromu gösterdikleri bildirilmiştir (Garmabi ve ark. 2016). Başka bir çalışmada ise melatoninin, mikrogliyada kriyopirin kodlayan gen (NLRP3) sinyalini hedefleyerek morfinin yan etkilerini hafifletebileceğini ve morfinin neden olduğu analjezik toleransı hafiflettiğini göstermek için çeşitli kanıtlar sağlanmıştır. Kronik morfine maruz kalmanın, aşırı hücrel ROS üretimine ve mikrogliyada NLRP3 inflamasyonunun aktivasyonuna yol açtığı potansiyel mekanizmalarla gösterilmiştir. Melatonin, ROS'u azaltabilir ve sonuç olarak NLRP3'ün inflamasyonunun aktivasyonunu inhibe ettiği, aşırı aktive edilmiş IL-1 β sinyalleşmesini bastırdığı, bunun da sonunda morfinin analjezik toleransının gelişimini zayıflattığı bildirilmiştir (Feng ve ark. 2013). Bahsedilen bu etkinin uyuşturucu bağımlılığında rol oynadığı gösterilen (Zhao ve ark. 2010; Feng ve ark. 2013; Guo ve ark. 2015) ve autophagy related 5 (Atg5) ve Atg7'ye bağlı, dopaminerjik nörona özgü bir model sunan (Su ve ark. 2017) otofajiden bağımsız olduğu bildirilmiştir. Ayrıca, Fan ve ark. morfine bağlı hiperaljeziye ve toleransa sahip sıçanlarda kronik morfin infüzyonundan sonra serum melatonin ve MT1 reseptör mRNA'sında anlamlı bir düşüş bildirmişlerdir (Fan ve ark. 2017). İndüksiyon fazı sırasında morfin ile melatonin uygulanmasının, nalokson enjeksiyonu sonrasında sıçrama sayısını azalttığı tespit edilmiştir (Raghavendra ve Kulkarni 2000).

Melatonin, davranışlar ve fizyolojik işlevler üzerindeki etkilerini büyük ölçüde melatonin reseptörleri olan MT1 ve MT2 aracılığıyla göstermektedir (Onalapo ve

Onaolapo 2017; 2018). Son yıllarda MT1/MT2 heteromer melatonin reseptörünün varlığı da kanıtlanmıştır (Baba ve ark. 2014). MT1 ve MT2 reseptörleri yüksek afiniteli melatonin reseptörleridir ve inhibitör G proteini vasıtasıyla hücre içi cAMP seviyelerinin baskılanmasına aracılık ederler. Aynı zamanda melatonin, MT1 ve MT2 reseptörleri vasıtasıyla anksiyolitik ve analjezik etki göstermektedir (Kopp ve ark. 1999; Yu ve ark. 2000).

Melatonin membran reseptörleri MT1 ve MT2'nin bağımlılık davranışında önemli roller oynadığı bilinen prefrontal korteks, striatum, nükleus akumbens, amigdala, hipokampus ve hipotalamus dahil olmak üzere beynin birçok farklı bölgelerinde mevcut oldukları bilinmektedir (Noori ve ark. 2012). Bu nedenle, melatoninin morfin tüketimi gibi bağımlılık yapıcı davranışları modüle ettiği düşünülmektedir. MT1 ve MT2 reseptörlerinin genetik olarak silinmesinin, melatonin eksprese eden C3H/HeN farelerinde metamfetamin kaynaklı lokomotor duyarlılığın (Hutchinson, Hudson, and Dubocovich 2012) ve metamfetamin kaynaklı ödülün (Clough et al. 2014) gelişimini ve ekspresyonunu ortadan kaldırdığını öne süren raporlar mevcuttur. Epilepsi, bipolar bozukluklar ve analjezik amaçla kullanılan valproik asitin hipokampustaki MT1 ve MT2 mRNA ekspresyonlarını önemli bir şekilde upregüle ettiği bildirilmiştir (Niles ve ark. 2012). Başka bir çalışmada, antidepresanlar ve kokain ile uzun süreli tedavi, melatonin reseptörü mRNA içeriğindeki değişiklik ile ilişkilendirilmiştir ve bu ilaçların MT1 ve MT2 mRNA'ları üzerindeki etkilerinin beyin bölgesine özgü olduğu (Imbesi ve ark. 2006) ancak uzun süreli kokain kullanımının MT2 reseptör ekspresyonunu değiştirmediği belirtilmiştir (Imbesi ve ark. 2006; Hutchinson ve ark. 2012).

Bu çalışmada aynı gruplar üzerinde 2 aşamalı uygulama yapılmıştır. İlk aşamada, deney hayvanları morfin bağımlılık modeli uygulanarak bağımlı hale getirilmiş ikinci aşamada ise bağımlılık üzerine hipotalamus ve hipokampusta melatonin reseptörlerinin gen ifade düzeyleri araştırılmıştır. Morfin bağımlılığını belirlemek için belirtilen koşullar altında Modifiye Gellert ve Holtzman Davranış Skorlaması uygulanmış ve ağırlık ölçümleri yapılmıştır.

Morfin bağımlılığı ile yapılan, ilk niteliği taşıyan bazı çalışmalarda nalokson yani çekilme grubundaki sıçanlarda gözlenen diyarenin nalokson dozuna bağlı olarak değiştiği ve vücut kütle kaybı ile oluşan diyare şiddetinin kolerasyon gösterdiği

bildirilmiştir (Ho ve ark. 1979). Çünkü vücut kütle kaybı diyare nedeniyle oluşmaktadır (Riahi ve ark. 2009). Bizim çalışmamızda da nalokson uygulanan bağımlılık grubunda diğer gruplara göre defekasyon (diyare) sayısı ve % vücut ağırlık kaybı diğer gruplar ile karşılaştırıldığında anlamlı olarak yüksek bulunmuştur.

Literatür incelendiğinde bazı fare çalışmalarında sıçrama davranışı morfin çekilmesi için majör belirleyici olarak kabul edilmiştir (Nemoto ve ark. 2013). Başka bir çalışmada ise nikotik asetilkolin reseptörü ligantlarının opiyat geri çekilme davranışsal belirtilerini azaltma kabiliyeti, morfine bağımlı hayvanlara nalokson uygulamasının ardından sıçrama davranışının değerlendirilmesiyle ölçülmüştür (Neugebauer ve ark. 2013). Bizim çalışmamızda da sıçrama davranışı sadece nalokson uygulanan morfin çekilmesi oluşturulmuş sıçan grubunda gözlenmiştir.

Bazı çalışmalarda penis yalama ve vokalizasyon davranışı da testlere dahil edilmiştir (Moon ve ark. 2019). Gözlelediğimiz hayvan davranışlarında skalada yer alan davranışlara ek olarak; morfin grubundaki bazı sıçanlarda uzun süre hareketsiz kalma davranışı ve uzun süre kafasını yere koyarak yatma davranışı, nalokson grubundaki bazı sıçanlarda ise uzun süre uzun yatma pozisyonunda kalma davranışı, cinsel organını yalama, ses çıkarma ve fazla sayıda tıksırma davranışı belirgin bir şekilde gözlenmiştir.

RT-PCR, immünohistokimya ve transgenik modeller kullanılarak, hipokampusun piramidal ve granüler nöronlarında MT1 ve MT2 mRNA ve protein ifadeleri bulunmuştur (Mazzucchelli ve ark. 1996; Adamah-Biassi ve ark. 2014; Ng ve ark. 2017b). Özellikle, CA1 bölgesinde diffüz MT1 reseptör immünoaktivitesi tespit edilirken, CA2 ve CA3 bölgelerinde MT1 reseptörlerinin zayıf varlığı gözlenmiştir (Lacoste ve ark. 2015). Dentat girusta, hilusta MT1 immünoaktivitesi tanımlanırken granüler tabakada hiçbiri saptanmamıştır. MT1 reseptör seviyelerinin, sıçanların hem frontal korteksinde hem de hipokampusundaki travmatik beyin hasarından sonra azaldığı bildirilmiştir (Osier ve ark. 2017). Hipokampusta, CA1 alanının morfin çekilmesi sonucu oluşan olumsuz duygusal bileşeminde rol oynadığı düşünülmektedir (Frenois ve ark. 2002). Bizim çalışmamızda da literatüre uygun olarak, hipokampusta morfin grubundaki sıçanlarda diğer gruplara kıyasla MT1 ve MT2 reseptör ifadelerinin yükselme eğiliminde olduğu saptanmıştır. MT1/MT2

heteromeri ifadesinin varlığı anlamlı olmasa da bu konudaki literatür bilgisi için ve bu konu ile alakalı gelecekte yapılacak çalışmalar için aydınlatıcı olabilir.

Western immunoblot yöntemi ile yapılan önceki çalışmalarda hipotalamusta MT1 ve MT2 varlığı kanıtlanmıştır (Lacoste ve ark. 2015). İnsanlarda MT1 reseptör protein içeriği en yoğun SCN'de mevcut olduğu, hayvanlarda ise özellikle SCN nöronlarının dendrit ve somalarında lokalize olduğu gösterilmiştir (Waly ve Hallworth 2015). MT2, MT1 protein miktarı ile karşılaştırıldığında bu bölgelerde daha düşük olduğu fakat paraventriküler ve supraoptik çekirdekte MT2 protein miktarının daha fazla olduğu bildirilmiştir (Wu ve ark. 2013). MT1/MT2 heteromerinin varlığı fare fotoreseptör rodunda ortaya konmuştur (Liu vd. 2016). Çalışmamızda hipotalamustaki MT1 ve MT1/MT2 heteromer gen ekspresyonları M ve M+N gruplarında anlamlı olarak yüksek saptanmıştır. MT2 gen ekspresyonu istatistiksel olarak anlamlı olmasa da morfinin MT2 gen ekspresyonu üzerinde olumlu etki gösterdiği sonucu çıkarılabilir.

Melatonin ve morfin bağımlılığı birbiri ile ilişkilidir fakat bu ilişkinin altında yatan mekanizma kesin olarak henüz bilinmemektedir (Hemati ve ark. 2020). Melatoninin, morfin bağımlılığı modelinde toleransı azaltıcı etkisi davranış testleriyle gösterilmiştir (Chen ve ark. 2020). Bu etkide melatoninin antioksidan etkisinin aracı rol oynayabileceği bildirilmiştir. Bizim sonuçlarımız da göz önüne alındığında morfin bağımlılığı ve çekilmesinin limbik sistemde melatonin reseptör ifade düzeylerini değiştirerek bazı nöroendokrinolojik etkiler oluşturabileceği ifade edilebilir.

Bir diğer çalışmada art arda beş gün intratekal morfin uygulamasının yetişkin sıçanlarda hiperaljezi ve morfin toleransı ile sonuçlandığı, serum melatonin düzeyini düşürdüğü, sıçanların spinal dorsal boynuzunda melatonin reseptörü MT1 ifadesini azalttığı, ancak MT2 ve MOR'u düşürmediği ve PKC γ 'yı up regüle ettiği saptanmıştır (Fan 2017). Farelerle yapılan bir opioit ve melatonin çalışmasında ise kokain uygulamasının hipokampusta MT1 ve MT2 düzeyini değiştirmedeği ve striatumdaki MT1 mRNA miktarının azaldığı, MT2 mRNA miktarının ise değişmediği bildirilmiştir İlginç bir şekilde, bu tür maddelerin MT1/MT2 mRNA'lar üzerindeki etkileri beyin bölgesine özel olduğu bildirilmiştir (İmbesi 2006). Çalışmamız ile karşılaştırıldığında opioit bağımlılığı sürecinde rol oynayan melatonin reseptörleri gen ifade miktarlarının spesifik bölgelere göre farklılık gösterebileceği fikri edinilebilir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu tez çalışması, morfin bağımlılık modeli oluşturulmuş sıçanlarda meydana gelen davranış değişikliklerinin yanında hipokampus ve hipotalamustaki MT1, MT2 ve MT1/MT2 heterometrik gen ifadelerinin araştırıldığı bir çalışmadır.

Bu çalışma sonucunda morfin bağımlılığının hipokampustaki MT1 ve MT2 gen ifadelerini arttırma eğiliminde olduğu fakat bu artışın anlamlı olmadığı belirlenmiştir. Hipotalamusta ise morfin bağımlılığı sonucunda MT1 gen ifadesinin morfin + nalokson grubunda anlamlı olarak arttığı ve MT1/MT2 heterometrik gen ifadesinin de morfin + nalokson grubunda daha yüksek olduğu saptanmıştır.

Morfin bağımlılığının melatonin reseptörleri üzerine etkileri hipokampustan ziyade hipotalamusta ortaya çıkmıştır. Bu durum hipotalamik işlevlerde melatoninin daha etkili olabileceğini göstermektedir. Böylece opioit bağımlılığında melatoninle ilişkili hipotalamik etkilerin artabileceği söylenebilir. Melatonin reseptörlerinin opioit bağımlılığı süreçlerindeki muhtemel etkileri daha ileri düzeydeki çalışmalarla araştırılabilir. Spesifik melatonin reseptör agonist veya antagonistlerin etkilerinin belirlenmesine yönelik araştırmalar planlanabilir.

Bu çalışma morfin bağımlılığı modelinde MT1/MT2 heteromer melatonin reseptörü gen ifadesinin hipokampus ve hipotalamustaki varlığını ortaya koyan ilk çalışmadır. Melatonin ve melatonin reseptörlerinin bağımlılık üzerindeki etkileri ve etki mekanizmaları büyük oranda gizemini korumaktadır. Özellikle kısa bir zaman önce mevcudiyeti saptanan MT1/MT2 heteromerleri hakkındaki bilgilerin aydınlatılması için bu konu hakkında daha çok çalışma yapılmalı ve bulunan sonuçlar literatüre kazandırılmalıdır.

7. KAYNAKLAR

- Abdollahi H, Ghaemi-Jandabi M, Azizi H, Semnani S. The role of orexin type-1 receptors in the development of morphine tolerance in locus coeruleus neurons: An electrophysiological perspective. *Brain Res. Elsevier B.V.*; 2016;1646:91–7.
- Adamah-Biassi EB, Zhang Y, Jung H, Vissapragada S, Miller RJ, Dubocovich ML. Distribution of MT1 Melatonin Receptor Promoter-Driven RFP Expression in the Brains of BAC C3H/HeN Transgenic Mice. *J Histochem Cytochem.* 2014;62(1):70-84.
- Akbarian S, Bates B, Liu RJ, Skirboll SL, Pejchal T, Coppola V, Sun LD, Fan G, Kucera J, Wilson MA, Tessarollo L, Kosofsky BE, Taylor JR, Bothwell M, Nestler EJ, Aghajanian GK, Jaenisch R. Neurotrophin-3 modulates noradrenergic neuron function and opiate withdrawal. *Mol Psychiatry.* 2001;6(5):593-604.
- Al-Hasani R, Bruchas MR. Molecular mechanisms of opioid receptor-dependent signaling and behavior. *Anesthesiology.* 2011;115(6):1363-81.
- Alexiuk NAM, Vriend JP. Melatonin reduces dopamine content in the neurointermediate lobe of male syrian hamsters. *Brain Res Bull.* 1993;32(4):433-6.
- Alijanpour S, Tirgar F, Zarrindast MR. Role of dorsal hippocampal orexin-1 receptors in memory restoration induced by morphine sensitization phenomenon. *Neuroscience. Elsevier Ltd;* 2016;312:215–26.
- Allouche S, Noble F, Marie N. Opioid receptor desensitization: Mechanisms and its link to tolerance. *Front. Pharmacol. Frontiers Media S.A.*; 2014; 8(5):280.
- Almela P, Navarro-Zaragoza J, García-Carmona JA, Mora L, Hidalgo J, Milanés MV, Laorden ML. Role of Corticotropin-Releasing Factor (CRF) Receptor-1 on the Catecholaminergic Response to Morphine Withdrawal in the Nucleus Accumbens (NAc). *PLoS One.* 2012;7(10):e47089.
- Altunkaya N, Erdogan MA, Ozgul U, Sanli M, Ucar M, Ozhan O, Sumer F, Erdogan S, Colak C, Durmus M. Changes in melatonin, cortisol, and body temperature, and the relationship between endogenous melatonin levels and analgesia consumption in patients undergoing bariatric surgery. *Obes Surg.* 2018;28(10):3186-3192.
- Andén NE, Carlsson A, Dahlström A, Fuxe K, Hillarp NÅ, Larsson K. Demonstration and mapping out of nigro-neostriatal dopamine neurons. *Life Sci.* 1964;3:523-30.
- Anderson G. Mitochondria and the Gut as crucial hubs for the interactions of melatonin with sirtuins, inflammation, butyrate, tryptophan metabolites, and alpha 7 nicotinic receptor across a host of medical conditions. *Melatonin Res.* 2019;2(2):70-85.
- Anderson SM, Pierce RC. Cocaine-induced alterations in dopamine receptor signaling: Implications for reinforcement and reinstatement. *Pharmacol. Ther.* 2005;106(3):389-403.
- Atasoy ÖB, Erbaş O. Melatonin hormonunun fizyolojik etkileri. *İstanbul Bilim Üniversitesi Tıp Fakültesi.* 2017;3(1):52-62
- Axelrod J, Wurtman Rj, Snyder Sh. Control of hydroxyindole o-methyltransferase activity in the rat pineal. *J Biol Chem.* 1965;240:949-54.
- Ayoub MA, Couturier C, Lucas-Meunier E, Angers S, Fossier P, Bouvier M, Jockers R. Monitoring of ligand-independent dimerization and ligand-induced conformational changes of melatonin receptors in living cells by bioluminescence resonance energy transfer. *J Biol Chem.* 2002;(24):21522-8.
- Ayoub MA, Levoye A, Delagrance P, Jockers R. Preferential formation of MT1/MT2 melatonin receptor heterodimers with distinct ligand interaction properties compared with MT 2 homodimers. *Mol Pharmacol. Mol Pharmacol;* 2004;66(2):312–21.
- Baba K, Benleulmi-Chaachoua A, Journé AS, Kamal M, Guillaume JL, Dussaud S, Gbahou F, Yettou K, Liu C, Contreras-Alcantara S, Jockers R, Tosini G. Heteromeric MT1/MT2 melatonin receptors modulate photoreceptor function. *Sci Signal.* 2013;6(296):ra89.
- Baser T, Özdemir E, Taskiran S, Arslan G. The Effect of Ghrelin Receptor on Morphine Analgesia and Tolerance in Rats. *Neuroendocrinology.* 2018;107:31.
- Bassareo V, Di Chiara G. Modulation of feeding-induced activation of mesolimbic dopamine transmission by appetitive stimuli and its relation to motivational state. *Eur J Neurosci.* 1999;11(12):4389-97.
- Bassareo V, De Luca MA, Di Chiara G. Differential impact of pavlovian drug conditioned stimuli on in vivo dopamine transmission in the rat accumbens shell and core and in the prefrontal cortex. *Psychopharmacology (Berl).* 2007;191(3):689-703.

- Berridge KC, Kringelbach ML. Pleasure Systems in the Brain. *Neuron*. Cell Press; 2015. s. 646–64.
- Bhargava HN. Diversity of agents that modify opioid tolerance, physical dependence, abstinence syndrome, and self-administrative behavior. *Pharmacol. Rev.* 1994;46(3):293-324.
- Bilecki W, Zapart G, Ligeza A, Wawrzczak-Bargiela A, Urbański MJ, Przewłocki R. Regulation of the extracellular signal-regulated kinases following acute and chronic opioid treatment. *Cell Mol Life Sci.* 2005;62(19–20):2369–75.
- Björklund A, Dunnett SB. Dopamine neuron systems in the brain: an update. *Trends Neurosci.* 2007;30(5):194-202
- Bodnar RJ. Endogenous opiates and behavior: 2014. *Peptides*. Elsevier Inc.; 2016; 50:55-95.
- Bouchard S, Bousquet C, Roberge AG. Characteristics of dihydroxyphenylalanine/5-hydroxytryptophan decarboxylase activity in brain and liver of cat. *J Neurochem.* 1981;37(3):781-7.
- Bourdelaís A, Kalivas PW. Amphetamine lowers extracellular GABA concentration in the ventral pallidum. *Brain Res.* 1990;516(1):132-6.
- Boutin JA, Audinot V, Ferry G, Delagrangé P. Molecular tools to study melatonin pathways and actions. *Trends Pharmacol. Sci.* 2005.;26(8):412-9.
- Brunton LL, Chabner BA, Knollmann BC. Goodman&Gillman The Pharmacological Basic Of Therapeutics. Goodman Gilman’s Pharmacol. Basis Ther. 2011.
- Brydon L, Roka F, Petit L, De Coppet P, Tissot M, Barrett P, Morgan PJ, Nanoff C, Strosberg AD, Jockers R. Dual signaling of human Mel1a melatonin receptors via G(i2), G(i3), and G(q/11) proteins. *Mol Endocrinol.* 1999;13(12):2025-38.
- Bubenik GA. Gastrointestinal melatonin: Localization, function, and clinical relevance. *Dig. Dis. Sci.* 2002;47(10):2336-48.
- Caillé S, Parsons LH. Cannabinoid modulation of opiate reinforcement through the ventral striatopallidal pathway. *Neuropsychopharmacology.* 2006;31(4):804-13.
- Cao JL, He JH, Ding HL, Zeng YM. Activation of the spinal ERK signaling pathway contributes naloxone-precipitated withdrawal in morphine-dependent rats. *Pain.* 2005;118(3):336–49.
- Cardinali DP, Pévet P. Basic aspects of melatonin action. *Sleep Med. Rev.* 1998; 2(3):175-90.
- Carlsson A. The occurrence, distribution and physiological role of catecholamines in the nervous system. *Pharmacol Rev.* 1959;11(2):490-3.
- Carlsson A, Waters N, Holm-Waters S, Tedroff J, Nilsson M, Carlsson ML. Interactions Between Monoamines, Glutamate, and GABA in Schizophrenia: New Evidence. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 2001;41:237-60.
- Carr DB, Sesack SR. GABA-containing neurons in the rat ventral tegmental area project to the prefrontal cortex. *Synapse.* 2000;38(2):114–23.
- Caumo W, Levandovski R, Hidalgo MPL. Preoperative anxiolytic effect of melatonin and clonidine on postoperative pain and morphine consumption in patients undergoing abdominal hysterectomy: a double-blind, randomized, placebo-controlled study. *J Pain.* 2009;10(1):100-8.
- Cecon E, Oishi A, Jockers R. Melatonin receptors: molecular pharmacology and signalling in the context of system bias. *Br. J. Pharmacol.* 2018;175(16):3263-3280.
- Chen C, Fan Q, Nong Z, Chen W, Li Y, Huang L, Feng D, Pan X, Lan S. Hyperbaric oxygen attenuates withdrawal symptoms by regulating monoaminergic neurotransmitters and no signaling pathway at nucleus accumbens in morphine-dependent rats. *Neurochem Res.* 2018;43(3):531-539.
- Chen C, Nong Z, Huang J, Chen Z, Zhang S, Jiao Y, Chen X, Huang R. Yulangsán polysaccharide attenuates withdrawal symptoms and regulates the NO pathway in morphine-dependent rats. *Neurosci Lett.* 2014;6;570:63-8.
- Cheng YC, Tsai RY, Sung YT, Chen IJ, Tu TY, Mao YY, Wong CS. Melatonin regulation of transcription in the reversal of morphine tolerance: Microarray analysis of differential gene expression. *Int J Mol Med.* 2019;43(2):791-806.
- Di Chiara G. Role of dopamine in the behavioural actions of nicotine related to addiction. *Eur J Pharmacol.* Elsevier; 2000;393(1-3):295-314.
- Chiou L-C, Liao Y-Y, Fan P-C, Kuo P-H, Wang C-H, Riemer C, Prinszen E. Nociceptin/Orphanin FQ Peptide Receptors: Pharmacology and Clinical Implications. *Curr Drug Targets*. Bentham Science Publishers Ltd.; 2006;8(1):117–35.
- Chong TJJ, Husain M. The role of dopamine in the pathophysiology and treatment of apathy. *Prog*

- Brain Res. 2016;229:389-426.
- Christie MJ. Cellular neuroadaptations to chronic opioids: Tolerance, withdrawal and addiction. *Br. J. Pharmacol.* 2008;154(2):384-96.
- Chrousos GP. The hypothalamic–pituitary–adrenal axis and immune-mediated inflammation. *N Engl J Med.* 1995;332(20):1351-62.
- Claustrat B, Brun J, Chazot G. The basic physiology and pathophysiology of melatonin. *Sleep Med Rev.* 2005;9(1):11–24.
- Conway S, Canning SJ, Howell HE, Mowat ES, Barrett P, Drew JE, Delagrangé P, Lesieur D, Morgan PJ. Characterisation of human melatonin mt1 and MT2 receptors by CRE-luciferase reporter assay. *Eur J Pharmacol.* 2000;390(1-2):15-24.
- Dhawan BN, Cesselin F, Raghurib R, Reisine T, Bradley PB, Portoghese PS, Hamon M. International Union of Pharmacology. XII. Classification of opioid receptors. *Pharmacol. Rev.* 1996;48(4):567-92.
- Done C, Silverstone P, Sharp T. Effect of naloxone-precipitated morphine withdrawal on noradrenaline release in rat hippocampus in vivo. *Eur J Pharmacol.* Elsevier; 1992;215(2–3):333–6.
- Dong Y, Nestler EJ. The neural rejuvenation hypothesis of cocaine addiction. *Trends Pharmacol. Sci.* Elsevier Ltd; 2014;35(8):374-83.
- van Dorp ELA, Yassen A, Dahan A. Naloxone treatment in opioid addiction: The risks and benefits. *Expert Opin. Drug Saf.* 2007;6(2):125-32.
- Dubocovich ML. Melatonin is a potent modulator of dopamine release in the retina. *Nature.* 1983;306(5945):782-4.
- Dubocovich ML, Markowska M. Functional MT 1 and MT 2 melatonin receptors in mammals. *Endocrine.* 2005;27(2):101-10.
- Dubocovich ML, Rivera-Bermudez MA, Gerdin MJ, Masana MI. Molecular pharmacology, regulation and function of mammalian melatonin receptors. *Front. Biosci.* 2003;8:d1093-108.
- Duvernoy HM, Cattin F, Risold PY, Vannson JL, Gaudron M. The human hippocampus: Functional anatomy, vascularization and serial sections with MRI, fourth edition. *Hum. Hippocampus Funct. Anatomy, Vasc. Ser. Sect. with MRI, Fourth Ed.* 2013.
- Ebisawa T, Karne S, Lerner MR, Reppert SM. Expression cloning of a high-affinity melatonin receptor from *Xenopus* dermal melanophores. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1994;91(13):6133-7.
- Ekmekcioglu C. Melatonin receptors in humans: Biological role and clinical relevance. *Biomed. Pharmacother.* 2006;60(3):97-108.
- Elman I, Borsook D, Volkow ND. Pain and suicidality: Insights from reward and addiction neuroscience. *Prog. Neurobiol.* Pergamon; 2013;109:1-27.
- Emet M, Ozcan H, Ozel L, Yayla M, Halici Z, Hacimuftuoglu A. Bir melatonin derlemesi, reseptörleri ve ilaçları. *Eurasian J Med.* 2016;48(2):135–41.
- Agar E., İnsan Fizyolojisi, İstanbul Tıp Kitapevi, 2021, 1. Baskı, İstanbul, p: 898-900.
- Evans CJ, Cahill CM. Neurobiology of opioid dependence in creating addiction vulnerability [version 1; referees: 3 approved]. *F1000Research.* 2016;5:F1000 Faculty Rev-1748.
- Everitt BJ, Wolf ME. Psychomotor Stimulant Addiction: A Neural Systems Perspective. *J. Neurosci.* 2002;22(9):3312-20.
- Exposito I, Mora F, Zisapel N, Oaknin S. The modulatory effect of melatonin on the dopamine-glutamate interaction in the anterior hypothalamus during ageing. *Neuroreport.* 1995;6(17):2399-403.
- Fan Y, Liang X, Wang R, Song L. Role of endogenous melatonergic system in development of hyperalgesia and tolerance induced by chronic morphine administration in rats. *Brain Res Bull.* 2017;135:105-112.
- Farahmandfar M, Karimian SM, Zarrindast MR, Kadivar M, Afrouzi H, Naghdi N. Morphine sensitization increases the extracellular level of glutamate in CA1 of rat hippocampus via μ -opioid receptor. *Neurosci Lett.* Elsevier; 2011;494(2):130–4.
- Fehmi M, Ozcankaya R, Delibas N, Koyu A, Caliskan S. Melatonin ve Klinik Önemi. *SDÜ Tıp Fakültesi Derg.* 2009.
- Feng Y, He X, Yang Y, Chao D, H. Lazarus L, Xia Y. Current Research on Opioid Receptor Function. *Curr Drug Targets.* 2012;13(2):230-46.

- Feng YM, Jia YF, Su LY, Wang D, Lv L, Xu L, Yao YG. Decreased mitochondrial DNA copy number in the hippocampus and peripheral blood during opiate addiction is mediated by autophagy and can be salvaged by melatonin. *Autophagy*. 2013;9(9):1395–406.
- Fishman J, Roffwarg H, Hellman L. Disposition of naloxone 7,8 3H in normal and narcotic dependent men. *J Pharmacol Exp Ther*. 1973;187(3):575-80.
- Fleming LM, Ponjee G, Childers SR. Inhibition of protein phosphorylation by opioid-inhibited adenylyl cyclase in rat brain membranes. *J Pharmacol Exp Ther*. 1992;260(3):1416–24.
- Fox ME, Nathan Rodeberg T, Mark Wightman R. Reciprocal Catecholamine Changes during Opiate Exposure and Withdrawal. *Neuropsychopharmacology*. Nature Publishing Group; 2017;42(3):671–81.
- Frankowska M, Wydra K, Faron-Górecka A, Zaniewska M, Kuśmider M, Dziedzicka-Wasylewska M, Filip M. Alterations in gamma-aminobutyric acid(B) receptor binding in the rat brain after reinstatement of cocaine-seeking behavior. *Pharmacol Rep*. 2008;60(6):834–43.
- Frenois F, Cador M, Caillé S, Stinus L, Le Moine C. Neural correlates of the motivational and somatic components of naloxone-precipitated morphine withdrawal. *Eur J Neurosci*. 2002;16(7):1377-89.
- Von Gall C, Weaver DR, Moek J, Jilg A, Stehle JH, Korf HW. Melatonin plays a crucial role in the regulation of rhythmic clock gene expression in the mouse pars tuberalis. *Ann N Y Acad Sci*. 2005;1040:508-11.
- Gao J, Xu K, Liu H, Liu G, Bai M, Peng C, Li T, Yin Y. Impact of the gut microbiota on intestinal immunity mediated by tryptophan metabolism. *Front. Cell. Infect. Microbiol*. 2018;8:13.
- Garcia-Maurino S, Pozo D, Calvo JR, Guerrero JM. Correlation between nuclear melatonin receptor expression and enhanced cytokine production in human lymphocytic and monocytic cell lines. *J Pineal Res*. 2000; 29(3):129-37.
- Garmabi B, Vousoughi N, Vosough M, Yoonessi A, Bakhtazad A, Zarrindast MR. Effect of circadian rhythm disturbance on morphine preference and addiction in male rats: Involvement of period genes and dopamine D1 receptor. *Neuroscience*. IBRO; 2016;322:104–14.
- Gawel K, Gibula-Bruzda E, Dziedzic M, Jenda-Wojtanowska M, Marszalek-Grabska M, Silberring J, Kotlinska JH. Cholinergic activation affects the acute and chronic antinociceptive effects of morphine. *Physiol Behav*. Elsevier Inc.; 2017;169:22–32.
- Gendron L, Cahill CM, Von Zastrow M, Schiller PW, Pineyro G. Molecular pharmacology of δ -opioid receptors. *Pharmacol Rev*. American Society for Pharmacology and Experimental Therapy; 2016;68(3):631–700.
- Genet VE, Tez S. In vitro koşullarda sirkadien melatonin etkisine maruz bırakılan embriyolarda SOD ve HMGB1 genlerinin ekspresyonları ile melatonin etkisinin takibi. *Demiroğlu Bilim Üniversitesi Akademik Arşiv Sistemi*; 2014
- Goodman A. Neurobiology of addiction. An integrative review. *Biochem Pharmacol*. 2008;75(1):266–322.
- Grall-Bronnec M, Sauvaget A. The use of repetitive transcranial magnetic stimulation for modulating craving and addictive behaviours: A critical literature review of efficacy, technical and methodological considerations. *Neurosci. Biobehav. Rev*. Elsevier Ltd; 2014;47:592-613.
- Guo ML, Liao K, Periyasamy P, Yang L, Cai Y, Callen SE, Buch S. Cocaine-mediated microglial activation involves the ER stress-autophagy axis. *Autophagy*. 2015;11(7):995-1009.
- Hall JH, Editör; Çağlayan Yeğen B, Alican İnci, Solakoğlu Z. *Guyton ve Hall Tıbbi fizyoloji*. 13. Basım. inc Güneş Tıp Kitap Evi. 2017; 259-60.
- Hall JH, Editör; Çağlayan Yeğen B, Alican İnci, Solakoğlu Z. *Guyton ve Hall Tıbbi fizyoloji*. 13. Basım. inc Güneş Tıp Kitap Evi. 2017; 255-57.
- Hamdi A. Melatonin administration increases the affinity of D2 dopamine receptors in the rat striatum. *Life Sci*. 1998;63(23):2115-20.
- Han J, Xu Y, Yu CX, Shen J, Wei YM. Melatonin reverses the expression of morphine-induced conditioned place preference through its receptors within central nervous system in mice. *Eur J Pharmacol*. 2008;594(1–3):125–31.
- Hardeland R. Melatonin: Signaling mechanisms of a pleiotropic agent. *BioFactors*. 2009;35(2):183–92.
- Hardeland R, Reiter RJ, Poeggeler B, Tan DX. The significance of the metabolism of the neurohormone melatonin: Antioxidative protection and formation of bioactive substances. *Neurosci Biobehav Rev*. 1993;17(3):347-57.

- Harris AC, Gewirtz JC. Acute opioid dependence: Characterizing the early adaptations underlying drug withdrawal. *Psychopharmacology (Berl)*. 2005;178(4):353-66.
- Hassanipour, M., et al., Atorvastatin attenuates the antinociceptive tolerance of morphine via nitric oxide dependent pathway in male mice. *Brain research bulletin*, 2016. 125: p. 173-180.
- Heimer L, de Olmos J, Alheid G, J P, Sakamoto N, Shinoda K, Marksteiner J, Switzer R. The human basal forebrain Part II. *Primate Nerv Syst Part 3*. 1999.
- Hemati K, Pourhanifeh MH, Dehdashtian E, Fatemi I, Mehrzadi S, Reiter RJ, Hosseinzadeh A. Melatonin and morphine: potential beneficial effects of co-use. *Fundam. Clin. Pharmacol*. 2020.
- Ho AKS, Chen RCA, Kreek MJ. Morphine withdrawal in the rat: Assessment by quantitation of diarrhea and modification by ethanol. *Pharmacology*. 1979;18(1):9-17.
- Hogan M V., El-Sherif Y, Wieraszko A. The modulation of neuronal activity by melatonin: In vitro studies on mouse hippocampal slices. *J Pineal Res*. 2001;30(2):87-96.
- Hooshmandi M, Hosseinmardi N, Janahmadi M, Khakpai F, Rohampour K, Doostmohammadi J. Antagonism of orexin type-1 receptors (OX1Rs) attenuates naloxone-precipitated morphine withdrawal syndrome in rat dorsal hippocampus. *Pharmacol Biochem Behav. Elsevier Inc.*; 2017;158:39-48.
- Hosseinzadeh A, Javad-Moosavi SA, Reiter RJ, Hemati K, Ghaznavi H, Mehrzadi S. Idiopathic pulmonary fibrosis (IPF) signaling pathways and protective roles of melatonin. *Life Sci*. 2018;201:17-29.
- Hu H, Gan J, Jonas P. Fast-spiking, parvalbumin+ GABAergic interneurons: From cellular design to microcircuit function. *Science (80-)*. 2014;345(6196):1255-263.
- Hutchinson AJ, Hudson RL, Dubocovich ML. Genetic deletion of MT1 and MT2 melatonin receptors differentially abrogates the development and expression of methamphetamine- induced locomotor sensitization during the day and the night in C3H/HeN mice. *J Pineal Res*. 2012;53(4):399-409.
- Iguchi H, Kato KI, Ibayashi H. Melatonin serum levels and metabolic clearance rate in patients with liver cirrhosis. *J Clin Endocrinol Metab*. 1982;54(5):1025-7.
- Imbesi M, Arslan AD, Yildiz S, Sharma R, Gavin D, Tun N, Manev H, Uz T. The melatonin receptor MT1 is required for the differential regulatory actions of melatonin on neuronal “clock” gene expression in striatal neurons in vitro. *J Pineal Res*. 2009;46(1):87-94.
- Imbesi M, Uz T, Yildiz S, Arslan AD, Manev H. Drug- and region-specific effects of protracted antidepressant and cocaine treatment on the content of melatonin MT1 and MT2 receptor mRNA in the mouse brain. *Int J Neuroprot Neuroregener*. 2006;2(3):185-9.
- Iversen SD, Iversen LL. Dopamine: 50 years in perspective. *Trends Neurosci*. 2007;30(5):188-93.
- Janković BD. Neuroimmunomodulation From Phenomenology to Molecular Evidence, b . *Ann N Y Acad Sci*. 1994;25:741:1-38.
- Jilg A, Moek J, Weaver DR, Korf HW, Stehle JH, Von Gall C. Rhythms in clock proteins in the mouse pars tuberalis depend on MT1 melatonin receptor signalling. *Eur J Neurosci*. 2005;22(11):2845-54.
- Jockers R, Maurice P, Boutin JA, Delagrang P. Melatonin receptors, heterodimerization, signal transduction and binding sites: What’s new? *Br. J. Pharmacol*. 2008;154(6):1182-95.
- Jockers R, Petit L, Lacroix I, De Coppet P, Barrett P, Morgan PJ, Guardiola B, Delagrang P, Marullo S, Strosberg AD. Novel isoforms of Mel(1c) melatonin receptors modulating intracellular cyclic guanosine 3',5'- monophosphate levels. *Mol Endocrinol*. 1997;11(8):1070-81
- Johnson SW, North RA. Opioids excite dopamine neurons by hyperpolarization of local interneurons. *J Neurosci. Society for Neuroscience*; 1992;12(2):483-8.
- Johnson SW, Seutin V, North RA. Burst firing in dopamine neurons induced by N-methyl-D-aspartate: Role of electrogenic sodium pump. *Science (80-)*. 1992;258(5082):665-7.
- Kaka G, Rahmanzade R, Safae F, Haghparast A. Naloxone induces frequent jumping after chronic morphine and methamphetamine co-administration in rats. *Basic Clin Neurosci*. 2014;5(1):42-7.
- Kalso E, Edwards JE, Moore RA, McQuay HJ. Opioids in chronic non-cancer pain: Systematic review of efficacy and safety. *Pain*. 2004;112(3):372-80.
- Kamal M, Gbahou F, Guillaume JL, Daulat AM, Benleulmi-Chaachoua A, Luka M, Chen P, Anaraki DK, Baroncini M, La Cour CM, Millan MJ, Prevot V, Delagrang P, Jockers R. Convergence of melatonin and serotonin (5-HT) signaling at MT2/5-HT2C receptor heteromers. *J Biol Chem*. 2015;290(18):11537-46.
- Kappers JA. The mammalian pineal organ. *J. Neurovisc. Relat*. 1969;31(9):140.

- Kato K, Hirai K, Nishiyama K, Uchikawa O, Fukatsu K, Ohkawa S, Kawamata Y, Hinuma S, Miyamoto M. Neurochemical properties of ramelteon (TAK-375), a selective MT 1/MT2 receptor agonist. *Neuropharmacology*. 2005;48(2):301-10.
- Kelley AE. Memory and addiction: Shared neural circuitry and molecular mechanisms. *Neuron*. Cell Press; 2004. s. 161–79.
- Klein DC, Weller JL. Indole metabolism in the pineal gland: A circadian rhythm in N-acetyltransferase. *Science* (80-). 1970;169(3950):1093-5.
- Koob GF, Ahmed SH, Boutrel B, Chen SA, Kenny PJ, Markou A, O'Dell LE, Parsons LH, Sanna PP. Neurobiological mechanisms in the transition from drug use to drug dependence. *Neurosci Biobehav Rev*. Elsevier Ltd; 2004;739–49.
- Koob GF, Bloom FE. Cellular and molecular mechanisms of drug dependence. *Science* (80-). 1988;242(4879):715-23.
- Koob GF, Le Moal M. Neurobiology of Addiction. *Neurobiol. Addict*. 2006.
- Koob GF, Stinus L, Moal M Le, Bloom FE. Opponent process theory of motivation: Neurobiological evidence from studies of opiate dependence. *Neurosci Biobehav Rev*. Pergamon; 1989;13(2–3):135–40.
- Kopp C, Vogel E, Rettori MC, Delagrang P, Renard P, Lesieur D, Misslin R. Antagonistic effects of S 22153, a new mt1 and MT2 receptor ligand, on the neophobia-reducing properties of melatonin in BALB/c mice. *Pharmacol Biochem Behav*. 1999;64(1):131-6.
- Krebs RM, Boehler CN, Roberts KC, Song AW, Woldorff MG. The involvement of the dopaminergic midbrain and cortico-striatal-thalamic circuits in the integration of reward prospect and attentional task demands. *Cereb Cortex*. 2012;22(3):607-15.
- Kurtuncu M, Arslan AD, Akhisaroglu M, Manev H, Uz T. Involvement of the pineal gland in diurnal cocaine reward in mice. *Eur J Pharmacol*. 2004;489(3):203-5.
- Lacoste B, Angeloni D, Dominguez-Lopez S, Calderoni S, Mauro A, Frascini F, Descarries L, Gobbi G. Anatomical and cellular localization of melatonin MT1 and MT2 receptors in the adult rat brain. *J Pineal Res*. 2015;
- Laudon M, Nir I, Zisapel N. Melatonin receptors in discrete brain areas of the male rat. Impact of aging on density and on circadian rhythmicity. *Neuroendocrinology*. 1988;
- Law P-Y, Wong YH, Loh HH. Molecular Mechanisms and Regulation of Opioid Receptor Signaling. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*. Annual Reviews; 2000;40(1):389–430.
- Lerner AB. Hormones and skin color. *Sci Am*. 1961;
- Lerner AB, Case JD, Heinzelman R V. Structure of melatonin. *J Am Chem Soc*. 1959;
- Lerner AB, Case JD, Takahashi Y, Lee TH, Mori W. Isolation of melatonin, the pineal gland factor that lightens melanocytes. *J. Am. Chem. Soc*. 1958;80(10): 2587
- Levoye A, Dam J, Ayoub MA, Guillaume JL, Couturier C, Delagrang P, Jockers R. The orphan GPR50 receptor specifically inhibits MT1 melatonin receptor function through heterodimerization. *EMBO J*. 2006;25(13): 3012–3023.
- Lin L, Meng T, Liu T, Zheng Z. Increased melatonin may play dual roles in the striata of a 6-hydroxydopamine model of Parkinson's disease. *Life Sci*. 2013;92(4-5):311-316.
- Listos J, Baranowska-Bosiacka I, Talarek S, Listos P, Orzelska J, Fidecka S, Gutowska I, Kolasa A, Rybicka M, Chlubek D. The effect of perinatal lead exposure on dopamine receptor D2 expression in morphine dependent rats. *Toxicology*. 2013;310:73–83.
- Listos J, Baranowska-Bosiacka I, Wąsik A, Talarek S, Tarnowski M, Listos P, Łupina M, Antkiewicz-Michaluk L, Gutowska I, Tkacz M, Pilutin A, Orzelska-Górka J, Chlubek D, Fidecka S. The adenosinergic system is involved in sensitization to morphine withdrawal signs in rats—neurochemical and molecular basis in dopaminergic system. *Psychopharmacology (Berl)*. Springer Verlag; 2016;233(12):2383–97.
- Listos J, Łupina M, Talarek S, Mazur A, Orzelska-Górka J, Kotlińska J. The mechanisms involved in morphine addiction: An overview. *Int. J. Mol. Sci*. MDPI AG; 2019;20(17): 4302.
- Liu J, Clough SJ, Hutchinson AJ, Adamah-Biassi EB, Popovska-Gorevski M, Dubocovich ML. MT 1 and MT 2 Melatonin Receptors: A Therapeutic Perspective . *Annu Rev Pharmacol Toxicol*. 2016;56(1):361–83.
- Long DM. Basic Neurochemistry Molecular, Cellular, and Medical Aspects. *Neurosurg Q*. 2006
- Lunzer MM, Portoghese PS. Selectivity of δ - and κ -opioid ligands depends on the route of central

- administration in mice. *J Pharmacol Exp Ther.* 2007;322(1):166–71.
- Lynch HJ. Diurnal oscillations in pineal melatonin content. *Life Sci.* 1971;10(14):791-5.
- Maestroni Gjm, Conti A, Pierpaoli W. Pineal Melatonin, Its Fundamental Immunoregulatory Role in Aging and Cancer. *Ann N Y Acad Sci.* 1988;521:140-8.
- Maksimovich AA. Structure and function of the vertebrate pineal gland. *J. Evol. Biochem. Physiol.* 2002;38(1):1-15
- Margolis EB, Toy B, Himmels P, Morales M, Fields HL. Identification of rat ventral tegmental area GABAergic neurons. *PLoS One.* 2012;7(7):e42365.
- Maronde E, Stehle JH. The mammalian pineal gland: known facts, unknown facets. *Trends Endocrinol. Metab.* 2007;18(4):142-9.
- Maurizi CP. Alzheimer's disease: Roles for mitochondrial damage, the hydroxyl radical, and cerebrospinal fluid deficiency of melatonin. *Med Hypotheses.* 2001;57(2):156-60.
- Mazzucchelli C, Pannacci M, Nonno R, Lucini V, Frascini F, Stankov BM. The melatonin receptor in the human brain: Cloning experiments and distribution studies. *Mol Brain Res.* 1996;39(1-2):117-26.
- McFarland K, Kalivas PW. The circuitry mediating cocaine-induced reinstatement of drug-seeking behavior. *J Neurosci.* 2001;21(21):8655-63.
- Meye FJ, van Zessen R, Smidt MP, Adan RAH, Ramakers GMJ. Morphine withdrawal enhances constitutive μ -opioid receptor activity in the ventral tegmental area. *J Neurosci.* 2012;32(46):16120–8.
- Míguez JM, Recio J, Sánchez-Barceló E, Aldegunde M. Changes with age in daytime and nighttime contents of melatonin, indoleamines, and catecholamines in the pineal gland: A comparative study in rat and Syrian hamster. *J Pineal Res.* 1998;25(2):106-15.
- Milligan G. G-protein-coupled receptor heterodimers: pharmacology, function and relevance to drug discovery. *Drug Discov. Today.* 2006;11(11-12):541-9.
- Missale C, Russel Nash S, Robinson SW, Jaber M, Caron MG. Dopamine receptors: From structure to function. *Physiol. Rev.* 1998;78(1):189-225.
- Mitra S, Sinatra RS. Perioperative management of acute pain in the opioid-dependent patient. *Anesthesiology.* 2004;212–27.
- Mo R, Kas A. Hipertiroidi olu ş turulan ratlarda intraperitoneal melatonin uygulamas ı n ı n tiroid hormonlar ı ve testosteron sal ı nmas ı na etkisi. 2002;12(4):129–32.
- Mochida S. Presynaptic calcium channels. *Neurosci. Res.* 2018;127:33-44.
- Mogenson GJ, Jones DL, Yim CY. From motivation to action: Functional interface between the limbic system and the motor system. *Prog. Neurobiol.* 1980;14(2-3):69-97.
- Moises HC, Rusin KI, Macdonald RL. μ - and κ -opioid receptors selectively reduce the same transient components of high-threshold calcium current in rat dorsal root ganglion sensory neurons. *J Neurosci.* 1994;14(10):5903–16.
- Moon S, Kang S, Shin H, Yayeh T, Sur B, Oh S. Morphine dependence is attenuated by treatment of 3,4,5-trimethoxy cinnamic acid in mice and rats. *Neurochem Res.* 2019;44(4):874-883.
- Moore RY, Klein DC. Visual pathways and the central neural control of a circadian rhythm in pineal serotonin N-acetyltransferase activity. *Brain Res.* 1974.
- Morera AL, Abreu-Gonzalez P, Henry M. Melatonin as a Biological Marker in Schizophrenia. *Handb Neuropsychiatr Biomarkers, Endophenotypes Genes.* 2009;(January):107–19.
- Morgan PJ, Barrett P, Howell HE, Helliwell R. Melatonin receptors: Localization, molecular pharmacology and physiological significance. *Neurochem. Int.* 1994;24(2):101-46.
- Musshoff U, Riewenherm D, Berger E, Fauteck JD, Speckmann EJ. Melatonin receptors in rat hippocampus: Molecular and functional investigations. *Hippocampus.* 2002;12(2):165-73.
- Naidu PS, Singh A, Joshi D, Kulkarni SK. Possible mechanisms of action in quercetin reversal of morphine tolerance and dependence. *Addict Biol.* 2003;8(3):327–36.
- Nakamoto K, Kawasaki S, Kobori T, Fujita-Hamabe W, Mizoguchi H, Yamada K, Nabeshima T, Tokuyama S. Involvement of matrix metalloproteinase-9 in the development of morphine tolerance. *Eur J Pharmacol.* 2012;683(1–3):86–92.
- Nemoto W, Sato T, Nakagawasai O, Yaoita F, Silberring J, Tadano T, Tan-No K. Phenylmethanesulfonyl fluoride, a serine protease inhibitor, suppresses naloxone-precipitated

- withdrawal jumping in morphine-dependent mice. *Neuropeptides*. 2013;47(3):187-91.
- Nestler EJ. Molecular basis of long-term plasticity underlying addiction. *Nat Rev Neurosci*. 2001;2(2):119-28.
- Neugebauer NM, Einstein EB, Lopez MB, McClure-Begley TD, Mineur YS, Picciotto MR. Morphine dependence and withdrawal induced changes in cholinergic signaling. *Pharmacol Biochem Behav*. 2013;109:77-83.
- Ng KY, Leong MK, Liang H, Paxinos G. Melatonin receptors: distribution in mammalian brain and their respective putative functions. *Brain Struct Funct*. Springer Berlin Heidelberg; 2017a;222(7):2921-39.
- Ng KY, Leong MK, Liang H, Paxinos G. Melatonin receptors: distribution in mammalian brain and their respective putative functions. *Brain Struct Funct*. 2017b;222(7):2921-2939.
- Ngai SH, Berkowitz BA, Yang JC, Hempstead J, Spector S. Pharmacokinetics of naloxone in rats and in man: basis for its potency and short duration of action. *Anesthesiology*. 1976;44(5):398-401.
- Niles LP, Sathiyapalan A, Bahna S, Kang NH, Pan Y. Valproic acid up-regulates melatonin MT1 and MT2 receptors and neurotrophic factors CDNF and MANF in the rat brain. *Int J Neuropsychopharmacol*. 2012;15(9):1343-50.
- Noori HR, Spanagel R, Hansson AC. NNurocircuitry for modeling drug effects. *Addict Biol*. 2012;17(5):827-64.
- North RA, Williams JT, Surprenant A, Christie MJ. μ and δ receptors belong to a family of receptors that are coupled to potassium channels. *Proc Natl Acad Sci U S A*. National Academy of Sciences; 1987;84(15):5487-91.
- Nosedá ACD, Rodrigues LS, Targa ADS, Aurich MF, Vital MABF, Da Cunha C, Lima MMS. Putative role of monoamines in the antidepressant-like mechanism induced by striatal MT2 blockade. *Behav Brain Res*. 2014;275:136-45.
- Nosjean O, Ferro M, Cogé F, Beauverger P, Henlin JM, Lefoulon F, Fauche JL, Delagrangé P, Canet E, Boutin JA. Identification of the melatonin-binding site MT3 as the quinone reductase 2. *J Biol Chem*. 2000;275(40):31311-7.
- Ochoa-Sanchez R, Comai S, Lacoste B, Bambico FR, Dominguez-Lopez S, Spadoni G, Rivara S, Bedini A, Angeloni D, Fraschini F, Mor M, Tarzia G, Descarries L, Gobbi G. Promotion of non-rapid eye movement sleep and activation of reticular thalamic neurons by a novel MT 2 melatonin receptor ligand. *J Neurosci*. 2011.
- Olds J, Milner P. Positive reinforcement produced by electrical stimulation of septal area and other regions of rat brain. *J Comp Physiol Psychol*. 1954;419- 427.
- Omar S, Saba N. Melatonin, Receptors, Mechanism, and Uses. *Syst Rev Pharm*. 2010.
- Onaolapo OJ, Onaolapo AY. Melatonin, adolescence, and the brain: An insight into the period-specific influences of a multifunctional signaling molecule. *Birth Defects Res*. 2017;109(20):1659-1671.
- Onaolapo OJ, Onaolapo AY. Melatonin receptors, behaviour and brain function. *Melatonin Med Uses Role Heal Dis*. 2018.
- Osier ND, Pham L, Pugh BJ, Puccio A, Ren D, Conley YP, Alexander S, Dixon CE. Brain injury results in lower levels of melatonin receptors subtypes MT1 and MT2. *Neurosci Lett*. 2017;650:18-24.
- Ozawa T, Nakagawa T, Shige K, Minami M, Satoh M. Changes in the expression of glial glutamate transporters in the rat brain accompanied with morphine dependence and naloxone-precipitated withdrawal. *Brain Res*. 2001;905(1-2):254-258.
- Ozcelik F, Erdem M, Bolu A, Glsn M. Melatonin: Genel Özellikleri ve Psikiyatrik Bozukluklardaki Rolü. *Psikiyatr Guncel Yaklasimler - Curr Approaches Psychiatry*. 2013;
- Ozdemir E. The pathophysiological role of serotonin receptor systems in opioid analgesia and tolerance. *Int J Basic Clin Pharmacol*. 2017;6(2):217
- Ozdemir E, Bagcivan I, Gursoy S. Role of D1/D2 dopamin receptors antagonist perphenazine in morphine analgesia and tolerance in rats. *Bosn J Basic Med Sci. Association of Basic Medical Sciences of FBIH*; 2013;13(2):119-25.
- Palaoğlu ÖS, Beşkonaklı E. Pineal bez ve yaşlanma. *Turk Geriatr. Derg*. 1998.
- Pandi-Perumal SR, Trakht I, Srinivasan V, Spence DW, Maestroni GJM, Zisapel N, Cardinali DP. Physiological effects of melatonin: Role of melatonin receptors and signal transduction pathways. *Prog. Neurobiol*. 2008;85(3):335-53.
- Pardridge WM, Mietus LJ. Transport of Albumin-bound Melatonin Through the Blood-Brain Barrier.

- J Neurochem. 1980;34(6):1761-3.
- Pasternak GW. Opioids and their receptors: Are we there yet? *Neuropharmacology*. Elsevier Ltd; 2014;76(PART B):198–203.
- Pasternak GW. Mu Opioid Pharmacology: 40 Years to the Promised Land. *Adv Pharmacol*. 2018;82:261-291.
- Patel N, Huang XP, Grandner J, Johansson LC, Stauch B, McCorvy JD, Liu Y, Roth B, Katritch V. Structure-based discovery of potent and selective melatonin receptor agonists. *Elife*. 2020;9:1–17.
- Peng J, Sarkar S, Chang SL. Opioid receptor expression in human brain and peripheral tissues using absolute quantitative real-time RT-PCR. *Drug Alcohol Depend*. 2012;124(3):223–8.
- Pert CB, Snyder SH. Opiate Receptor: Demonstration in Nervous Tissue. *Science* (80-). American Association for the Advancement of Science (AAAS); 1973;179(4077):1011–4.
- Petit L, Lacroix I, De Coppet P, Strosberg AD, Jockers R. Differential signaling of human Mel1a and Mel1b melatonin receptors through the cyclic guanosine 3'-5'-monophosphate pathway. *Biochem Pharmacol*. 1999;58(4):633-9.
- Philibin SD, Hernandez A, Self DW, Bibb JA. Striatal signal transduction and drug addiction. *Front Neuroanat*. 2011;5:60.
- Phillips AG, Atkinson LJ, Blackburn JR, Blaha CD. Increased extracellular dopamine in the nucleus accumbens of the rat elicited by a conditional stimulus for food: An electrochemical study. *Can J Physiol Pharmacol*. 1993;71(5-6):387-93.
- Pintér-Kübler B, Ferenczi S, Núñez C, Zelei E, Polyák Á, Milanés MV, Kovács KJ. Differential changes in expression of stress- and metabolic-related neuropeptides in the rat hypothalamus during morphine dependence and withdrawal. *PLoS One*. 2013;8(6):e67027.
- Pivonello R, Ferone D, Lombardi G, Colao A, Lamberts SWJ, Hofland LJ. Novel insights in dopamine receptor physiology. *Eur J Endocrinol Suppl*. 2007; 156(1):13-21.
- Poulin JF, Caronia G, Hofer C, Cui Q, Helm B, Ramakrishnan C, Chan CS, Dombeck DA, Deisseroth K, Awatramani R. Mapping projections of molecularly defined dopamine neuron subtypes using intersectional genetic approaches. *Nat Neurosci*. Nature Publishing Group; 2018;21(9):1260–71.
- Probst WC, Snyder LA, Schuster DI, Brosius J, Sealfon SC. Sequence alignment of the g-protein coupled receptor superfamily. *DNA Cell Biol*. 1992;11(1):1-20.
- Qi J, Zhang S, Wang HL, Barker DJ, Miranda-Barrientos J, Morales M. VTA glutamatergic inputs to nucleus accumbens drive aversion by acting on GABAergic interneurons. *Nat Neurosci*. Nature Publishing Group; 2016;19(5):725–33.
- Quay WB. Circadian rhythm in rat pineal serotonin and its modifications by estrous cycle and photoperiod. *Gen Comp Endocrinol*. 1963;3(5):473-479
- Raghav R, Jain R, Dhawan A, Roy TS, Kumar P. Chronic co-administration of nalbuphine attenuates the development of opioid dependence. *Pharmacol Biochem Behav*. 2018;175:130-138
- Raghavendra V, Kulkarni SK. Reversal of morphine tolerance and dependence by melatonin: Possible role of central and peripheral benzodiazepine receptors. *Brain Res*. 1999;834(1–2):178–81.
- Raghavendra V, Kulkarni SK. Possible mechanisms of action in melatonin reversal of morphine tolerance and dependence in mice. *Eur J Pharmacol*. 2000;409(3):279-89.
- Rahman MK, Nagatsu T, Sakurai T, Hori S, Abe M, Matsuda M. Effect of Pyridoxal Phosphate Deficiency on Aromatic L-Amino Acid Decarboxylase Activity With L-Dopa and L-5-Hydroxytryptophan as Substrates in Rats. *Jpn J Pharmacol*. 1982;32(5):803-11.
- Reisi P, Zarei G, Aslany N, Davoodi SR, Esfahani M, Matinfar M, Parsaei P. Effect of repeated morphine withdrawal on spatial learning, memory and serum cortisol level in mice. *Adv Biomed Res*. Medknow; 2013;2(1):80.
- Reiter RJ. The mammalian pineal gland: Structure and function. *Am J Anat*. 1981;162(4):287-313
- Reiter RJ. The ageing pineal gland and its physiological consequences. *BioEssays*. 1992;14(3):169-75.
- Reiter RJ. Melatonin: Clinical relevance. *Best Pract. Res. Clin. Endocrinol. Metab*. 2003.
- Reiter RJ, Korkmaz A. Clinical aspects of melatonin. *Saudi Med. J*. 2008;29(11):1537-47.
- Reiter RJ, Tan D, Sainz RM, Mayo JC, Lopez-Burillo S. Melatonin: reducing the toxicity and increasing the efficacy of drugs. *J Pharm Pharmacol*. 2002;54(10):1299-321.
- Reith MEA, Li MY, Yan QS. Extracellular dopamine, norepinephrine, and serotonin in the ventral tegmental area and nucleus accumbens of freely moving rats during intracerebral dialysis following

- systemic administration of cocaine and other uptake blockers. *Psychopharmacology* (Berl). Springer; 1997;134(3):309–17.
- Reppert SM. Melatonin Receptors: Molecular Biology of a New Family of G Protein-Coupled Receptors. *J Biol Rhythms*. 1997;12(6):528-31.
- Reppert SM, Godson C, Mahle CD, Weaver DR, Slaugenhaupt SA, Gusella JF. Molecular characterization of a second melatonin receptor expressed in human retina and brain: The Mel(1b) melatonin receptor. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1995;92(19):8734-8.
- Riahi E, Mirzaii-Dizgah I, Karimian SM, Sadeghipour Roodsari HR, Dehpour AR. Attenuation of morphine withdrawal signs by a GABAB receptor agonist in the locus coeruleus of rats. *Behav Brain Res*. 2009;196(1):11-4.
- Richard JM, Castro DC, DiFeliceantonio AG, Robinson MJF, Berridge KC. Mapping brain circuits of reward and motivation: In the footsteps of Ann Kelley. *Neurosci. Biobehav. Rev. NIH Public Access*; 2013;1919–31.
- Robinson TE, Berridge KC. The psychology and neurobiology of addiction: an incentive–sensitization view. *Addiction*. Wiley-Blackwell; 2000;95(8):91–117.
- Roka F, Brydon L, Waldhoer M, Strosberg AD, Freissmuth M, Jockers R, Nanoff C. Tight association of the human Mel(1a)-melatonin receptor and precoupling and constitutive activity. *Mol Pharmacol*. 1999;56(5):1014-24.
- Rosenbaum DM, Rasmussen SGF, Kobilka BK. The structure and function of G-protein-coupled receptors. *Nature*. 2009;459(7245):356-63.
- Rosenstein RE, Golombek DA, Kanterewicz BI, Cardinali DP. Time-dependency for the bimodal effect of melatonin on calcium uptake in rat hypothalamus. *J Neural Transm*. 1991;85(3):243-7.
- Sahraei H, Zarei F, Eidi A, Oryan S, Shams J, Khoshbaten A, Zarrindast MR. The role of nitric oxide within the nucleus accumbens on the acquisition and expression of morphine-induced place preference in morphine sensitized rats. *Eur J Pharmacol*. Elsevier; 2007;556(1–3):99–106.
- Salamone JD, Correa M. The Mysterious Motivational Functions of Mesolimbic Dopamine. *Neuron*. 2012;76(3): 470–485.
- Savaskan E, Ayoub MA, Ravid R, Angeloni D, Fraschini F, Meier F, Eckert A, Müller-Spahn F, Jockers R. Reduced hippocampal MT2 melatonin receptor expression in Alzheimer’s disease. *J Pineal Res*. John Wiley & Sons, Ltd; 2005;38(1):10–6.
- Savaskan E, Jockers R, Ayoub M, Angeloni D, Fraschini F, Flammer J, Eckert A, Muller-Spahn F, Meyer P. The MT2 Melatonin Receptor Subtype is Present in Human Retina and Decreases in Alzheimers Disease. *Curr Alzheimer Res*. 2007; 4(1):47-51.
- Savaskan E, Olivieri G, Meier F, Brydon L, Jockers R, Ravid R, Wirz-Justice A, Müller-Spahn F. Increased melatonin 1a-receptor immunoreactivity in the hippocampus of Alzheimer’s disease patients. *J Pineal Res*. 2002a;32(1):59-62.
- Savaskan E, Wirz-Justice A, Olivieri G, Pache M, Kräuchi K, Brydon L, Jockers R, Müller-Spahn F, Meyer P. Distribution of melatonin MT1 receptor immunoreactivity in human retina. *J Histochem Cytochem*. 2002b.
- Sayın A, Dopamin reseptörleri ve sinyal iletim özellikleri. Üniversitesi Tıp Fakültesi Psikiyatri Anabilim Dalı G. Klinik Psikiyatri. 2008;125–34.
- Schiff PL. Opium and its alkaloids. *Am. J. Pharm. Educ*. 2002.
- Schulteis G, Markou A, Gold LH, Stinus L, Koob GF. Relative sensitivity to naloxone of multiple indices of opiate withdrawal: A quantitative dose-response analysis. *J Pharmacol Exp Ther*. 1994;271(3):1391–8.
- Sephezadeh Z, Bahrololoumi Shapourabadi M, Ahmadi S, Hashemi Bozchlou S, Zarrindast MR, Sahebgharani M. Decreased AMPA GLuR2, but not GLuR3, mRNA expression in rat amygdala and dorsal hippocampus following morphine-induced behavioural sensitization. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 2008;35(11):1321–30.
- Sepulveda MJ, Hernandez L, Rada P, Tucci S, Contreras E. Effect of precipitated withdrawal on extracellular glutamate and aspartate in the nucleus accumbens of chronically morphine-treated rats: An in vivo microdialysis study. *Pharmacol Biochem Behav*. Elsevier Inc.; 1998;60(1):255–62.
- Sertürner H. Darstellung der reinen Mohnsäure (Opiumsäure) nebst einer chemischen Untersuchung des Opiums mit vorzüglicher Hinsicht auf einen darin neu entdeckten Stoff und die dahin gehörigen Bemerkungen. Friedrich Wilhelm Sertürner der Entdecker des Morphiums. 1925.

- Sesack SR, Grace AA. Cortico-basal ganglia reward network: Microcircuitry. *Neuropsychopharmacology*. Nature Publishing Group; 2010. s. 27–47.
- Shieh KR, Chu YS, Pan JT. Circadian change of dopaminergic neuron activity: Effects of constant light and melatonin. *Neuroreport*. 1997;8(9-10):2283-7.
- Sibley DR. New insights into dopaminergic receptor function using antisense and genetically altered animals. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*. 1999.
- Singh VP, Jain NK, Kulkarni SK. Fluoxetine suppresses morphine tolerance and dependence: Modulation of NO-cGMP/DA/serotonergic pathways. *Methods Find Exp Clin Pharmacol*. Prous Science; 2003;25(4):273–80.
- Sircar R. Effect of melatonin on cocaine-induced behavioral sensitization. *Brain Res*. 2000;857(1-2):295-299.
- Smith JS, Lefkowitz RJ, Rajagopal S. Biased signalling: From simple switches to allosteric microprocessors. *Nat. Rev. Drug Discov*. 2018; 17:243–260.
- Snyder SH, Taylor KM, Coyle JT, Meyerhoff JL. The role of brain dopamine in behavioral regulation and the actions of psychotropic drugs. *Am J Psychiatry*. 1970;127(2):199-207.
- Song L, Wu C, Zuo Y. Melatonin prevents morphine-induced hyperalgesia and tolerance in rats: Role of protein kinase C and N-methyl-D-aspartate receptors. *BMC Anesthesiol*. 2015.
- Sora I, Takahashi N, Funada M, Ujike H, Revay RS, Donovan DM, Miner LL, Uhl GR. Opiate receptor knockout mice define μ receptor roles in endogenous nociceptive responses and morphine-induced analgesia. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1997; 94(4): 1544–1549.
- Su LY, Luo R, Liu Q, Su JR, Yang LX, Ding YQ, Xu L, Yao YG. Atg5- and Atg7-dependent autophagy in dopaminergic neurons regulates cellular and behavioral responses to morphine. *Autophagy*. 2017;13(9):1496-1511.
- Sugden D. Comparison of circadian expression of tryptophan hydroxylase isoform mRNAs in the rat pineal gland using real-time PCR. *J Neurochem*. 2003; 86(5):1308-11.
- Sugden D, Davidson K, Hough KA, Teh MT. Melatonin, melatonin receptors and melanophores: A moving story. *Pigment Cell Res*. 2004.
- Takahashi TT, Vengeliene V, Spanagel R. Melatonin reduces motivation for cocaine self-administration and prevents relapse-like behavior in rats. *Psychopharmacology (Berl)*. 2017.
- Tan D-X, Reiter RJ. Mitochondria: the birth place, battle ground and the site of melatonin metabolism in cells. *Melatonin Res*. 2019.
- Tan DX, Pöeggeler B, Reiter RJ, Chen LD, Chen S, Lucien MC, Barlow-Walden LR. The pineal hormone melatonin inhibits DNA-adduct formation induced by the chemical carcinogen safrole in vivo. *Cancer Lett*. 1993.
- Taylor AMW, Castonguay A, Ghogha A, Vayssiere P, Pradhan AAA, Xue L, Mehrabani S, Wu J, Levitt P, Olmstead MC, De Koninck Y, Evans CJ, Cahill CM. Neuroimmune Regulation of GABAergic Neurons Within the Ventral Tegmental Area during Withdrawal from Chronic Morphine. *Neuropsychopharmacology*. Nature Publishing Group; 2016;41(4):949–59.
- Tepper JM, Tecuapetla F, Koós T, Ibáñez-Sandoval O. Heterogeneity and diversity of striatal GABAergic interneurons. *Front. Neuroanat. Frontiers*; 2010. s. 150.
- Thomson PA, Wray NR, Thomson AM, Dunbar DR, Grassie MA, Condie A, Walker MT, Smith DJ, Pulford DJ, Muir W, Blackwood DHR, Porteous DJ. Sex-specific association between bipolar affective disorder in women and GPR50, an X-linked orphan G protein-coupled receptor. *Mol Psychiatry*. 2005; 10(5):470-8.
- Toll L, Bruchas MR, Calo' G, Cox BM, Zaveri NT. Nociceptin/orphanin FQ receptor structure, signaling, ligands, functions, and interactions with opioid systems. *Pharmacol. Rev*. 2016;68(2): 419–457.
- Topkara B, Sakalli E, Jaferova M, Yananli H. P.6.c.011 The effect of GABA agonists in nucleus accumbens on morphine withdrawal signs in rats. *Eur Neuropsychopharmacol*. 2013.
- Torrecilla M, Quillinan N, Williams JT, Wickman K. Pre- and postsynaptic regulation of locus coeruleus neurons after chronic morphine treatment: A study of GIRK-knockout mice. *Eur J Neurosci*. John Wiley & Sons, Ltd; 2008;28(3):618–24.
- Tosini G, Owino S, Guillame J-L, Jockers R. Melatonin receptors: latest insights from mouse models. *Bioessays*. 2014; 36(8): 778–787.
- Toubia T, Khalife T. The Endogenous Opioid System: Role and Dysfunction Caused by Opioid

- Therapy. *Clin Obstet Gynecol.* 2019;62(1):3-10.
- Trescot AM, Datta S, Lee M, Hans H. Opioid pharmacology. *Pain Physician.* 2008.
- Tritsch NX, Ding JB, Sabatini BL. Dopaminergic neurons inhibit striatal output through non-canonical release of GABA. *Nature.* 2012;490:262–266.
- Tunay DL, Ilgınel MT, Ünlügenç H, Tunay M, Karacaer F, Biricik E. Comparison of the effects of preoperative melatonin or vitamin c administration on postoperative analgesia. *Bosn J Basic Med Sci.* 2020;20(1): 117–124.
- Uğurlu TT, Şengül CB, Şengül C. Bağımlılık psikofarmakolojisi. / Psychopharmacology of addiction. *Psikiyatr Güncel Yaklaşımlar.* 2012.
- UNODC UNO on D and C. International Standards for the Treatment of Drug Use Disorders — Draft for Field Testing. 2016;01463:1–102.
- Uz T, Akhisaroglu M, Ahmed R, Manev H. The Pineal Gland is Critical for Circadian Period1 Expression in the Striatum and for Circadian Cocaine Sensitization in Mice. *Neuropsychopharmacology.* 2003;28:2117–2123.
- Uz T, Arslan AD, Kurtuncu M, Imbesi M, Akhisaroglu M, Dwivedi Y, Pandey GN, Manev H. The regional and cellular expression profile of the melatonin receptor MT1 in the central dopaminergic system. *Mol Brain Res.* 2005a.
- Uz T, Arslan AD, Kurtuncu M, Imbesi M, Akhisaroglu M, Dwivedi Y, Pandey GN, Manev H. The regional and cellular expression profile of the melatonin receptor MT1 in the central dopaminergic system. *Mol Brain Res.* 2005b;136(1–2):45–53.
- Vanecek J. Cellular mechanisms of melatonin action. *Physiol. Rev.* 1998.
- Vengeliene V, Noori HR, Spanagel R. Activation of Melatonin Receptors Reduces Relapse-Like Alcohol Consumption. *Neuropsychopharmacology.* 2015.
- Volkow ND, Fowler JS, Wang GJ. The addicted human brain viewed in the light of imaging studies: Brain circuits and treatment strategies. *Neuropharmacology.* 2004; 47(1):3-13.
- Wadenberg MLG. A review of the properties of spiradoline: A potent and selective κ -opioid receptor agonist. *CNS Drug Rev.* 2003.
- Waldhauser F, Dietzel M. Daily and Annual Rhythms in Human Melatonin Secretion: Role in Puberty Control. *Ann N Y Acad Sci.* 1985; 453:205-14.
- Waldhoer M, Bartlett SE, Whistler JL. Opioid Receptors. *Annu Rev Biochem.* Annual Reviews 4139 El Camino Way, P.O. Box 10139, Palo Alto, CA 94303-0139, USA ; 2004;73(1):953–90.
- Waly NE, Hallworth R. Circadian pattern of melatonin MT1 and MT2 receptor localization in the rat suprachiasmatic nucleus. *J Circadian Rhythms.* 2015.
- Wang X, Sirianni A, Pei Z, Cormier K, Smith K, Jiang J, Zhou S, Wang H, Zhao R, Yano H, Kim JE, Li W, Kristal BS, Ferrante RJ, Friedlander RM. The melatonin MT1 receptor axis modulates mutant Huntingtin-Mediated Toxicity. *J Neurosci.* 2011;31(41):14496-507.
- Weaver DR, Reppert SM. The Mel(1a) melatonin receptor gene is expressed in human suprachiasmatic nuclei. *Neuroreport.* 1997; 8(1):109-12.
- Webb SM, Puig-Domingo M. Role of melatonin in health and disease. *Clin. Endocrinol. (Oxf).* 1995;42(3):221-34.
- Wei W, Xin W, Chun W, Ling L. Role of melatonin in the prevention of morphine-induced hyperalgesia and spinal glial activation in rats: Protein kinase C pathway involved. *Int J Neurosci.* 2012;122(3):154–63.
- Weinstein SH, Pfeffer M, Schor JM, Indindoli L, Mintz M. Metabolites of naloxone in human urine. *J Pharm Sci.* 1971; 60(10): 1567-1568.
- Weiss B, Greenberg LH, Cantor E. Denervation supersensitivity and beta-adrenergic receptors as a function of age. *Adv Biochem Psychopharmacol.* 1980; 21:461-72.
- Wiechmann AF, Sherry DM. Role of Melatonin and its Receptors in the Vertebrate Retina. *Int Rev Cell Mol Biol.* 2013;300:211-242.
- Wilson-Poe AR, Lau BK, Vaughan CW. Repeated morphine treatment alters cannabinoid modulation of GABAergic synaptic transmission within the rat periaqueductal grey. *Br J Pharmacol.* John Wiley and Sons Inc.; 2015;172(2):681–90.
- Wilson C, Nomikos GG, Collu M, Fibiger HC. Dopaminergic correlates of motivated behavior: Importance of drive. *J Neurosci.* 1995;5169-78.

- Wise RA. Dopamine, learning and motivation. *Nat. Rev. Neurosci.* 2004b. s. 483–94.
- Wise RA, Leeb P, Rivest R, Leeb K. Elevations of nucleus accumbens dopamine and DOPAC levels during intravenous heroin self-administration. *Synapse.* 1995
- Wise RA, Rompre PP. Brain Dopamine and Reward. *Annu Rev Psychol. Annual Reviews;* 1989;40(1):191–225.
- Witt-Enderby PA, Bennett J, Jarzynka MJ, Firestine S, Melan MA. Melatonin receptors and their regulation: Biochemical and structural mechanisms. *Life Sci.* 2003;72(20):2183-98.
- Wittert G, Hope P, Pyle D. Tissue distribution of opioid receptor gene expression in the rat. *Biochem Biophys Res Commun. Academic Press Inc.;* 1996;218(3):877–81.
- Wright WJ, Schlü Ter OM, Dong Y. A Feedforward Inhibitory Circuit Mediated by CB1-Expressing Fast-Spiking Interneurons in the Nucleus Accumbens. *Neuropsychopharmacology.* 2016;42:1146–56.
- Wu YH, Ursinus J, Zhou JN, Scheer FAJL, Ai-Min B, Jockers R, Van Heerikhuizen J, Swaab DF. Alterations of melatonin receptors MT1 and MT2 in the hypothalamic suprachiasmatic nucleus during depression. *J Affect Disord.* 2013.
- Wu YH, Zhou JN, Balesar R, Unmehopa U, Bao A, Jockers B, Van Heerikhuizen J, Swaab DF. Distribution of MT1 melatonin receptor immunoreactivity in the human hypothalamus and pituitary gland: Colocalization of MT1 with vasopressin, oxytocin, and corticotropin-releasing hormone. *J Comp Neurol.* 2006; 499(6):897-910.
- Xia Y, Haddad GG. Ontogeny and distribution of opioid receptors in the rat brainstem. *Brain Res.* 1991;549(2):181–93.
- Xue M, Atallah B V., Scanziani M. Equalizing excitation-inhibition ratios across visual cortical neurons. *Nature. Nature Publishing Group;* 2014;511(7511):596–600.
- Yager LM, Garcia AF, Wunsch AM, Ferguson SM. The ins and outs of the striatum: Role in drug addiction. *Neuroscience. Elsevier Ltd;* 2015. s. 529–41.
- Yahyavi-Firouz-Abadi N, Tahsili-Fahadan P, Ghahremani MH, Dehpour AR. Melatonin enhances the rewarding properties of morphine: Involvement of the nitric oxidergic pathway. *J Pineal Res.* 2007;42(4):323–9.
- Yazıcı C, Köse K. Melatonin: karanlığın antioksidan gücü. *Sağlık Bilim Derg.* 2004;13(2):56–66.
- Yıldırım Şu. melatonin ve melatonin reseptörlerinin aorta ve hüvec üzerindeki etkilerinin değerlendirilmesi. 2013;300.
- Yu CX, Zhu C Bin, Xu SF, Cao XD, Wu GC. Selective MT2 melatonin receptor antagonist blocks melatonin-induced antinociception in rats. *Neurosci Lett.* 2000.
- Yu J, Yan Y, Li KL, Wang Y, Huang YH, Urban NN, Nestler EJ, Schlüter OM, Dong Y. Nucleus accumbens feedforward inhibition circuit promotes cocaine self-administration. *Proc Natl Acad Sci U S A. National Academy of Sciences;* 2017;114(41):E8750–9.
- Yudin Y, Rohacs T. Inhibitory Gi/O-coupled receptors in somatosensory neurons: Potential therapeutic targets for novel analgesics. *Mol. Pain.* 2018.
- Zamponi GW, Snutch TP. Modulation of voltage-dependent calcium channels by G proteins. *Curr Opin Neurobiol. Elsevier Ltd;* 1998;8(3):351–6.
- Zaniewska M, Filip M, Przegalinski E. The Involvement of Norepinephrine in Behaviors Related to Psychostimulant Addiction. *Curr Neuropharmacol. Bentham Science Publishers Ltd.;* 2015;13(3):407–18.
- Zarrindast MR, Dinkoub Z, Homayoun H, Bakhtiarian A, Khavandgar S. Dopamine receptor mechanism(s) and morphine tolerance in mice. *J Psychopharmacol. SAGE Publications Ltd;* 2002;16(3):261–6.
- Zelante T, Iannitti RG, Cunha C, DeLuca A, Giovannini G, Pieraccini G, Zecchi R, D'Angelo C, Massi-Benedetti C, Fallarino F, Carvalho A, Puccetti P, Romani L. Tryptophan catabolites from microbiota engage aryl hydrocarbon receptor and balance mucosal reactivity via interleukin-22. *Immunity.* 2013.
- Zhang G, Wu X, Zhang YM, Liu H, Jiang Q, Pang G, Tao X, Dong L, Stackman RW. Activation of serotonin 5-HT_{2C} receptor suppresses behavioral sensitization and naloxone-precipitated withdrawal symptoms in morphine-dependent mice. *Neuropharmacology. Elsevier;* 2016;101:246–54.
- Zhang J, Haddad GG, Xia Y. delta-, but not mu- and kappa-, opioid receptor activation protects

- neocortical neurons from glutamate-induced excitotoxic injury. *Brain Res.* 2000;885(2):143–53.
- Zhang Z, Pan ZZ. Synaptic mechanism for functional synergism between δ - And μ -opioid receptors. *J Neurosci.* 2010;30(13):4735–45.
- Zhang Z, Schulteis G. Withdrawal from acute morphine dependence is accompanied by increased anxiety-like behavior in the elevated plus maze. *Pharmacol Biochem Behav.* Elsevier; 2008;89(3):392–403.
- Zhao L, Zhu Y, Wang D, Chen M, Gao P, Xiao W, Rao G, Wang X, Jin H, Xu L, Sui N, Chen Q. Morphine induces Beclin 1- and ATG5-dependent autophagy in human neuroblastoma SH-SY5Y cells and in the rat hippocampus. *Autophagy.* 2010.
- Zhou Y, Bendor J, Hofmann L, Randesi M, Ho A, Kreek MJ. Mu opioid receptor and orexin/hypocretin mRNA levels in the lateral hypothalamus and striatum are enhanced by morphine withdrawal. *J Endocrinol.* 2006;191(1):137–45.
- Zisapel N. Melatonin-dopamine interactions: From basic neurochemistry to a clinical setting. *Cell. Mol. Neurobiol.* 2001;21,605–616.
- Zisapel N, Egozi Y, Laudon M. Inhibition of dopamine release by melatonin: regional distribution in the rat brain. *Brain Res.* 1982; 246(1): 161-163.
- Zisapel N, Laudon M. Dopamine release induced by electrical field stimulation of rat hypothalamus invitro: Inhibition by melatonin. *Biochem Biophys Res Commun.* 1982; 104(4):1610-6.
- Zisapel N, Laudon M. Inhibition by melatonin of dopamine release from rat hypothalamus: regulation of calcium entry. *Brain Res.* 1983; 272(2): 378-381.
- Zurowski D, Nowak L, Machowska A, Wordliczek J, Thor PJ. Exogenous melatonin abolishes mechanical allodynia but not thermal hyperalgesia in neuropathic pain. The role of the opioid system and benzodiazepine-gabaergic mechanism. *J Physiol Pharmacol.* 2012; 63(6):641-7.

8. ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı - Soyadı	Yasin Ali ÇİMEN
Uyruğu	TC
Doğum Tarihi ve Yeri	02.03.1995 Selçuklu
Medeni Durum	Bekar
E-mail	yasin.alicimen@gmail.com
Tel	(545) 697 17 94
Yazışma Adresi	Ulurmak Mah. Dr. Ahmet ÖZCAN Cad. No:163/15

Eğitim Düzeyi	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mezuniyet Yılı
Lisans	Okan Üniversitesi	2017
Lise	Osman Nuri Hekimoğlu Anadolu Lisesi	2013

İş Deneyimleri

Görevi	Kurum / Görev	Süre (Yıl - Yıl)
1. Araştırma Görevlisi	Bezmialem Vakıf Üniversitesi	2020-Devam Ediyor
2. Araştırma Görevlisi	Konya KTO Üniversitesi	2018-2020
3. Fizyoterapist	Meram Denge Özel Eğitim ve Rehabilitasyon	2017-2018

Yabancı Dil	İngilizce
--------------------	-----------

Yayınlari/Tebliğleri/Sertifikalari/Ödülleri

Özel İlgi Alanları

Kitap okumak, araştırma yapmak.

9. EKLER

9.1. Etik Kurul Onayı



T.C.
NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ
KONÜDAM Deneysel Tıp Uygulama ve
Araştırma Merkezi Müdürlüğü



Karar Sayısı: 2020 – 039

Karar Tarihi: 24.11.2020

HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURUL KARARI

Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Fizyoloji ABD'den Dr. Öğr. Üyesi Faik Özdengül ve Yasın Ali Çimen tarafından sunulan "**Deneysel Morfin Bağımlılığı Modeli Oluşturulmuş Sıçanlarda Hipokampus ve Hipotalamustaki Melatonin Reseptörleri Gen İfade Düzeylerinin Araştırılması**" başlıklı tez projesi B üyenin katılımı ile değerlendirilmiştir.

Projede 3 grupta toplam 36 adet sıçan kullanılacağı, sıçanların hafif anestezi altında dekapitasyon ile sakrifiye edileceği bildirilmiştir.

Projenin deney hayvanlarına ilişkin yönlerinin, Necmettin Erbakan Üniversitesi KONÜDAM Deneysel Tıp Uygulama ve Araştırma Merkezi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Yönergesindeki ilgili maddeler gereğince "Etik Kurallara Uygunluk Esası" dikkate alınarak hazırlandığı belirlenmiştir.

Necmettin Erbakan Üniversitesi KONÜDAM Deneysel Tıp Uygulama ve Araştırma Merkezi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Yönergesindeki ilgili maddelerde belirtilen başvuru sahibinin sorumlulukları ve hayvan deneyleri ile ilgili etik ilkeler saklı kalmak koşulu ile projenin hazırlanmasında yönerge ilkelerine uyulduğu ve çalışmanın deneysel kısmını gerçekleştirecek araştırmacıların deney hayvanları kullanım sertifikasına sahip olduğu dikkate alınarak projenin hayvan kullanım etiği açısından "**Uygun**" olduğuna oybirliği ile karar verilmiştir.

Doç. Dr. Bilsev İNCE
Başkan Yardımcısı