

T.C.
NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Fizyoloji Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi

**Morfin Bağımlı Sıçanlarda Testiküler Kontraksiyon
Değişiklikleri: İn Vitro Çalışma**

Oğuzhan YAYLALI

Danışman
Doç. Dr. Z. Işık SOLAK GÖRMÜŞ

Bu araştırma Necmettin Erbakan Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 211318004 proje numarası ile desteklenmiştir.

Konya-2022

TEZ ONAY SAYFASI

Necmettin Erbakan Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Fizyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans **Oğuzhan YAYLALI**'nın "**Morfin Bağımlı Sıçanlarda Testiküler Kontraksiyon Değişiklikleri: İn Vitro Çalışma**" başlıklı tezi tarafımızdan incelenmiş; amaç, kapsam ve kalite yönünden Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

KONYA/ 1/07/2022

Tez Danışmanı Doç. Dr. Z. Işık SOLAK GÖRMÜŞ
Necmettin Erbakan Üniversitesi/
Meram Tıp Fakültesi/Fizyoloji Anabilim Dalı

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

Üye Doç. Dr. Leyla AYDIN
Ankara Yıldırım Beyazıt Üniversitesi/
Tıp fakültesi/ Fizyoloji Anabilim Dalı

Yukarıdaki tez, Necmettin Erbakan Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunun 06/07/2022 tarih ve 14/06 sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Kısmet Esra NURULLAHOĞLU ATALIK

Enstitü Müdürü

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.

1/07/2022

Oğuzhan YAYLALI

BENZERLİK RAPORU

Tezin Tam Adı: Morfin Bağımlı Sıçanlarda Testiküler Kontraksiyon Değişiklikleri: İn Vitro Çalışma

Öğrencinin Adı Soyadı: Oğuzhan Yaylalı

Dosyanın Tam Sayfası: 71

ORJİNALLİK RAPORU			
%9	%9	%1	%2
BENZERLİK ENDEKSİ	İNTERNET KAYNAKLARI	YAYINLAR	ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ
BİRİNCİL KAYNAKLAR			
1	acikbilim.yok.gov.tr İnternet Kaynağı		%3
2	acikerisim.erbakan.edu.tr İnternet Kaynağı		%2
3	archive.org İnternet Kaynağı		%1
4	Submitted to Konya Necmettin Erbakan University Öğrenci Ödevi		<%1
5	acikerisim.uludag.edu.tr İnternet Kaynağı		<%1
6	Submitted to Sağlık Bilimleri Üniversitesi Öğrenci Ödevi		<%1
7	9lib.net İnternet Kaynağı		<%1
8	qdoc.tips İnternet Kaynağı		<%1
9	www.journalagent.com İnternet Kaynağı		<%1

Danışman Öğretim Üyesi Adı Soyadı: Doç. Dr. Z. Işık SOLAK
GÖRMÜŞ

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Tez çalışmamızın gerçekleştirilmesinde değerli bilgilerini benimle paylaşan, kendisine ne zaman danışsam kıymetli zamanını ayırıp sabırla ve özveriyle faydalı olabilmek için elinden gelenden fazlasını sunan, her sorun yaşadığımda yanına çekinmeden gidebildiğim, güler yüzünü ve samimiyetini benden esirgemeyen kıymetli danışmanım Doç. Dr. Z. Işık SOLAK GÖRMÜŞ'e teşekkürü bir borç biliyor ve şükranlarımı sunuyorum.

Çalışma süresince bilgi ve becerilerini benimle paylaşarak yardım edip yol gösteren Arş. Gör. Dr. Raviye ÖZEN KOCA ve Dr. Öğr. Üy. Hatice SOLAK'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Öğrenciliğim boyunca akademik bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım, değerli hocam Prof. Dr. Selim KUTLU'ya,

Bilgi ve tecrübeleriyle hayata bakış açımı değiştiren değerli hocam Dr. Öğr. Üy. Faik ÖZDENGÜL'e,

Çalışmamın biyoistatistik kısmını hazırlamakta yardımcı olan sayın hocam Öğr. Gör. Sinan İYİSOY'a,

İlgi ve yardımını esirgemeyen Fizyoloji Anabilim Dalı sekreterimiz Esra Çetin Selçuk'a,

Hayatımın her anında yanımda olan, eğitim hayatım boyunca da her anlamda bana yardımcı olan ve beni motive eden, her şeyin en iyisine layık, en kıymetli varlıklarım sevgili babama, anneme ve ağabeylerime,

Çalışmamda yardımcı olan KONÜDAM Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Merkezi'ndeki ekip üyelerine ve Sağlık Bilimleri Enstitüsü öğrenci işlerine,

Tezimi 211318004 no'lu proje ile destekleyen NEÜ Bilimsel Araştırma Koordinatörlüğü'ne teşekkür ederim.

Oğuzhan YAYLALI

İÇİNDEKİLER

Tez Kapağı Ve İç Kapak.....	i
Tez Onay Sayfası	ii
Tez Beyan Sayfası.....	iii
Benzerlik Raporu	iv
Önsöz ve Teşekkür	v
Kısaltmalar ve Simgeler Listesi	viii
Şekiller Listesi.....	ix
Tablolar Listesi.....	x
Resimler Listesi.....	xi
ÖZET.....	xii
ABSTRACT	xiii
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. TEMEL BİLGİLER.....	3
2.1 Testisin fizyolojik anatomisi	3
2.2 Testisin yapısı	3
2.3 Düz kas.....	6
2.3.1 Düz kas yapısı	6
2.3.2 Çok birimli düz kas	7
2.3.3 Üniter (visseral, tek birimli) düz kaslar.....	7
2.3.4 Düz kasta kasılma mekanizması	8
2.3.4.1. Düz kas ile iskelet kasının kasılmalarının karşılaştırılması.....	10
2.3.4.2 Düz kas kasılmasında kontraksiyonun kalsiyum iyonları ile düzenlenmesi ..	11
2.3.4.3. Kasılmaya neden olan kalsiyum iyon kaynakları.....	12
2.3.4.4. Düz kasta sarkoplazmik retükulum ve görevi	12
2.3.4.5. Düz kasta gevşeme mekanizması.....	12
2.3.4.6. Düz kas kasılmasının sinirsel ve hormonal kontrolü.....	13
2.3.4.7. Düz kasın sinir-kas kavşağı.....	13
2.3.4.8. Düz kas sinir-kas kavşağında salgılanan aktive edici ve engelleyici transmitter maddeler.....	14
2.3.4.9. Düz kasta aksiyon potansiyelleri.....	14
2.3.4.9.1. Üniter düz kasta aksiyon potansiyeli.....	15
2.3.4.9.2. Çok birimli düz kasın aksiyon potansiyeli	16
2.3.4.10. Lokal kimyasal doku faktörlerinin kasılmaya etkisi	16

2.4. Opioidler	17
2.4.1. Opioid reseptörler.....	20
2.4.1.1. μ reseptörü (Mu, MOP).....	22
2.4.1.2. δ reseptörü (Delta, DOP).....	23
2.4.1.3. κ reseptörü (Kappa, KOP).....	24
2.4.2. Endojen ve Eksojen Ligandlar	24
2.4.3. Morfin	26
2.4.3.1. Opioid Bağımlılığı ve Yoksunluk Sendromu.....	26
2.4.4. Nalokson	29
3. GEREKÇE VE YÖNTEM	31
3.1. Deneyin Dizaynı	31
3.2. İzole Organ Banyosu Sistemi.....	31
3.2.1. Krebs Solüsyonunun hazırlanması.....	32
3.3. Morfin Bağımlılığının Oluşturulması ve Bağımlılık Skorunun Değerlendirilmesi	33
3.3. Bulguların İstatiksel Analizi	34
4. BULGULAR	35
4.1. Yoksunluk Sendromu Bulguları.....	35
4.2. İzole Organ Banyosu Bulguları.....	40
5. TARTIŞMA	44
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	51
7. KAYNAKLAR	53
8.ÖZGEÇMİŞ.....	56
9. EKLER.....	57

KISALTMALAR VE SİMGELER LİSTESİ

- ACTH:** Adrenokortikotropik Hormon
Ach: Asetilkolin
cAMP: Siklik adenzin monofosfat
cGMP: Siklik guanozin monofosfat
DAG: Diaçilgliserol
DOP: Delta reseptörü
FSH: Folikül stimüle edici hormon
GABA: Gama aminobütirik asit
GPCR: G protein bağı reseptör
GRK: G proteinine bağı reseptör kinazlar
GnRH: gonadotropin salgılatıcı hormon
IP3: İnozitol trifosfat
KOP: Kappa reseptörü
LH: Luteinizan hormon
MOP: Mu reseptörü
MSS: Merkezi sinir sistemi
PAG: periakuaduktal gri alan
PIP2: Fosfotidil inozitol difosfat
PLC: Fosfolipaz C
PSS: Periferik sinir sistemi
SR: Sarkoplazmik retikulum
VTA: Ventral tegmental alan

ŞEKİLLER LİSTESİ

<u>Şekil No</u>	<u>Sayfa No</u>
Şekil 2.1. Testis Dokusunun Anatomik ve Histolojik Görüntüsü	6
Şekil 2.2. Çok Birimli Düz Kas ve Üniter Düz Kasın Yapısı	8
Şekil 2.3. Üniter Düz Kas ve Çok Birimli Düz Kasta Aktin ve Miyozin İplikçiklerinin Dağılımı	10
Şekil 2.4. Düz Kas Gevşeme Mekanizması	13
Şekil 2.5. Visseral ve Çok Birimli Düz Kas Tiplerinin Gösterimi	14
Şekil 2.6. Üniter Düz Kasta Görülen Aksiyon Potansiyelleri	15
Şekil 2.7. Opioid G-Protein Bağlı Reseptör Yapısı	20
Şekil 2.8. Opioid Reseptörlerinin Yapısı	21
Şekil 2.9. Morfinin Yapısal Formülü	26
Şekil 2.10. Beynin Madde Bağımlılığı ile İlgili Yolakları	27

TABLULAR LİSTESİ

<u>Tablo No</u>	<u>Sayfa No</u>
Tablo 2.1. Opioid Reseptör Alt Tipleri, MSS’de Buldukları Yerler, Etkileri ve Spesifik Etkileri.....	24
Tablo 2.2. Endojen Opioidler, Sentetik ve Yarı Sentetik Opioid Agonistleri ve Antagonistleri ve Opioid Alt Tiplerine Göre Gösterdikleri Affinite.....	25
Tablo 2.3. Opioid Bağımlı Bireylerde Nalokson Kullanımı ve Yan Etkileri	30
Tablo 3.1. Geller-Holtzman Skalası	34
Tablo 4.1. Yoksunluk Sendromu Bulguları Ortalama Değerleri (\pm standart sapma).....	35
Tablo 4.2. Karma Etki Modeli Analizi, Grup, Zaman ve Grup-Zaman Karşılaştırılması	42
Tablo 4.3. Zamanlara Göre Grupların Birbirleriyle Karşılaştırılması	42
Tablo 4.4. Testis Kasılmalarının Zamana Göre Gerim Değerleri Ortalamaları.....	43

RESİMLER LİSTESİ

<u>Resim No</u>	<u>Sayfa No</u>
Resim 3.1. İzole Organ Banyosu Sistemi	32
Resim 4.1. Grupların Yoksunluk Skorlamasının Çizgi Grafiğinde Gösterimi	35
Resim 4.2. Gruplara Göre Ağırlık Kaybı Dağılımı Kutu Çizgi Grafiği Gösterimi.....	36
Resim 4.3. Grupların Kaçma Girişimi	36
Resim 4.4. Grupların Silkelene Sayısı Dağılımı.....	37
Resim 4.5. Grupların Defekasyon Sayılarının Dağılımı	37
Resim 4.6. Grupların Diş Çıtırdatma Sayılarının Çizgi-Kutu Grafiği ile Gösterimi	38
Resim 4.7. Gruplarda Şahlanma Sayısı Dağılımı	38
Resim 4.8. Grupların Süslenme Sayısı Dağılımı	39
Resim 4.9. Grupların Göz Kısmı Sayısı Dağılımı.....	39
Resim 4.10. Anormal Postür Sayısının Kutu-Çizgi Grafiğinde Gösterimi.....	40
Resim 4.11. İzole Organ Banyosunda Gruplara Göre Adrenalin Öncesi ve Sonrası Gerimler.	41
Resim 4.12. İn Vitro Testis Kapsülünün Adrenalin ile İndüklendikten Sonraki Gerimlerinin K, M ve MN Gruplarında Karşılaştırılması.....	41

ÖZET

T.C.

NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Morfin Bağımlı Sıçanlarda Testiküler Kontraksiyon Değişiklikleri:

İn Vitro Çalışma

Oğuzhan YAYLALI

Fizyoloji Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi Konya -2022

Opioidler eski çağlardan beri hem tıbbi amaçlı hem de keyif verici madde olarak kullanılmaktadır. Opioidler içerisinde en önemlilerden biri morfindir. Morfin mu opioid reseptör agonistidir, ayrıca diğer opioid reseptörlere de afinite gösteren çok güçlü bir analjeziktir. Tıbbi olarak kullanımı da bu yöndedir, fakat kronik kullanımda diğer opioidlerde olduğu gibi bağımlılık gelişmektedir. Opioidlerin erkek üreme sistemine olan negatif etkileri iyi bilinmekle beraber testis kapsülü kontraksiyonuna olan etkisi bilinmemektedir. Bu yüzden araştırmanın amacı deneysel morfin bağımlılığı oluşturulmuş sıçanlarda testis kontraksiyonu ve frekans değişikliklerini belirlemektir.

Çalışmada Necmettin Erbakan Üniversitesi KONÜDAM Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Merkezi'nden alınan 24 adet Wistar albino sıçan 3 gruba ayrılmıştır. Kontrol grubuna (K) 7 gün boyunca deri altından 10 mg/kg salin uygulanmıştır. Daha sonra 7. gün intraperitoneal olarak 3 ml/kg salin uygulanmıştır. Morfin grubuna (M) subkutan olarak 10 mg/kg morfin, 7. gün intraperitoneal olarak 3 ml/kg serum fizyolojik uygulanmıştır. Morfin-nalokson grubuna (MN) 10 mg/kg morfin 7 gün subkutan, 7. gün 3 ml/kg mu opioid antagonisti nalokson intraperitoneal olarak uygulanmıştır. Dekapitasyon öncesi sıçanlar davranış açısından incelenmiştir ve Geller-Holtzman skalasına göre puanlanmıştır. Dekapitasyon sonrası testis dokuları çıkartılmış, elde edilen testis kapsülleri izole organ banyosunda Krebs-Henseleit solüsyonu içeren 5 ml'lik haznelere kancalarla yerleştirilmiştir. Gerimleri 1 gram olacak şekilde ayarlanmıştır. 15'er dakikalık zaman dilimlerinde meydana gelen gerim/ frekans değişiklikleri kayıt altına alınmıştır. Testis kapsülü kontraksiyon gerimleri ve geri çekilme skorlama sonuçları değerlendirilmiştir.

Geller-Holtzman skalasına göre elde edilen veriler incelendiğinde gruplar arasında anlamlı fark bulunmuştur ($p<0,05$). Bu hem bağımlılığın hem de morfin yoksunluk sendromunun geliştiğinin göstergesidir. K, M ve MN grupları arasında testis kontraksiyon gerim değerleri arasında da anlamlı fark bulunurken ($p<0,05$), grup-zaman ve zaman parametrelerinde anlamlı fark tesbit edilmemiştir ($p>0,05$). Adrenalin verilmeden önceki gerim değerlerine bakıldığında MN ve K grubunun, M grubuna göre daha yüksek olduğu görülmüştür. Adrenalinle indükledikten sonra gerim değerinde en fazla azalma M grubunda olmuştur. Diğer iki grupta gerim değerlerinde daha az düşme meydana gelmiştir.

Anahtar Kelimeler: İzole organ banyosu, morfin bağımlılığı, nalokson, opioid, testis kontraksiyonu

ABSTRACT
REPUBLIC OF TÜRKİYE
NECMETTİN ERBAKAN UNIVERSITY
HEALTH SCIENCES INSTITUTE

Testicular Contraction Changes in Morphine Dependent Rats: An In Vitro Study

Oğuzhan YAYLALI

Department of the Physiology

Master Thesis / Konya-2022

Opioids have been used for both medicinal and recreational purposes since ancient times. One of the most important opioids is morphine. Morphine is a mu opioid receptor agonist and has affinity for other opioid receptors. Morphine is a very strong analgesic. Its medicinal use is also in this direction, but in chronic use, addiction develops as with other opioids. The negative effects of opioids on the male reproductive system are well known.

In the study, 24 Wistar albino rats taken from Necmettin Erbakan University KONUDAM Experimental Medicine Research and Application Center were divided into 3 groups. 10 mg/kg saline was administered subcutaneously to the control group for 7 days. Then, on the 7th day, 3 ml/kg saline was administered intraperitoneally. To the morphine group, 10 mg/kg morphine was administered subcutaneously, and 3 ml/kg saline was administered intraperitoneally on the 7th day. To the morphine-naloxone group, morphine was administered subcutaneously for 7 days, and 3 ml/kg mu opioid antagonist naloxone was administered intraperitoneally on the 7th day. Before decapitation, rats were examined for behavior and scored on the Geller-Holtzman scale. Tissues from rats later taken. Testicular capsules from rats were hooked into 5 ml chambers in an isolated organ bath. The chambers are filled with Krebs-Henseleit solution. Their tension is adjusted to be 1 g. Changes in 15-minute time periods were recorded. Testicular capsule contraction tensions and retraction scoring results were evaluated.

When the data obtained according to the Geller-Holtzman scale were examined, a significant difference was found between the groups. This indicates that both addiction and morphine withdrawal syndrome have developed. There was a significant difference in testicular contraction tension values between the K, M and MN groups ($p < 0.05$), but no significant difference was found in group-time and time parameters ($p > 0.05$). When the tension values before adrenaline administration were examined, it was seen that the MN group and K group were higher than the M group. After induction with adrenaline, the maximum decrease in the stretch value was in the M group. The decrease was less in the other two groups.

Key Words: Isolated organ bath, morphine addiction, naloxon, opioid, testicular contraction.

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Madde bağımlılığı olarak da bilinen uyuşturucu bağımlılığı, ilacı arama ve alma zorunluluğu, alımın sınırlandırılmasında kontrolün kaybedilmesi ve erişildiğinde olumsuz bir duygusal durumun (örneğin disfori, anksiyete, sinirlilik) ortaya çıkması ile karakterize, kronik olarak tekrarlayan bir bozukluktur (Koob 2008). Günümüzde bağımlılık yapıcı maddelerin kullanımı pek çok ülkede nispeten bir salgın hâlini almıştır ve toplumların ekonomik, sosyal ve sağlık sistemlerini tehdit eder hâle gelmiştir. Madde bağımlılığı olan bireyleri tedavi etmeyi amaçlayan çok sayıda sosyal, psikolojik ve tıbbi projeye rağmen, opioid kullanım bozukluğu olan bireylerin sayısının dünya çapında giderek arttığı gözlemlenmektedir. Günümüzde opioid bağımlılığı küresel bir halk sağlığı krizi olarak kabul edilmektedir. Dünya Sağlık Örgütü'ne göre, opioid aşırı doz ölümleri 2015 yılında 69.000 kişiden 118.000 kişiye yükselmiştir.

Opioidler merkezi sinir sistemi (MSS) ve diğer dokularda bulunan, kendilerine özgül reseptörlere bağlanarak etki eden, primer olarak analjezi amacıyla kullanılan, doğal (morfin, kodein) veya sentetik (meperidin, fentanil, sufentanil, alfentanil, remifentanil) yapıda ajanlardır. Kan-beyin bariyerini geçerek MSS üzerinde etkilerini gösterir. Bu maddelerin bağımlılık yapma potansiyelleri yüksektir ve narkotik analjezik madde olarak da adlandırılmaktadırlar. Morfin, kodein gibi doğal alkaloidler ve onların yarı-sentetik türevlerine opioid denilmektedir. Farmakolojik çalışmalar ile mü (μ), delta (δ) ve kappa (κ) olarak adlandırılan üç sınıf opioid reseptörü tanımlanmıştır. Bu reseptörler çoğunlukla merkezi sinir sisteminde, beyinde, omurilikte, ayrıca damarlar, kalp, akciğer, bağırsak ve hatta kan mononükleer hücrelerinde de bulunur (Minami ve ark. 1995).

Kronik ağrı tedavisinde en sık kullanılan opioidler morfin, metadon ve buprenorfin gibi μ agonistleridir. Tekrarlayan kullanımlarında bağımlılığa neden olabilmektedirler (McDonald ve ark. 2005). Adını morfinden alan μ opioid reseptörleri (MOR), morfinin yüksek afinite ile bağlandığı reseptörlerdir, bu reseptörler G protein kenetli olduklarından agonist varlığında hızla desensitizasyona uğrarlar (Matthes ve ark. 1996). Morfin ile ilgili özellikle reseptörlerinin yoğun bulunduğu beyin dokusunun çeşitli bölgeleri ile ilgili oldukça fazla sayıda çalışma yapılmasına rağmen morfin bağımlılığı ve yoksunluğunun başka dokular üzerindeki etkisini inceleyen çalışma sayısı fazla değildir.

İnsanlardan veya kemirgenlerden elde edilen testis kapsülü, esas olarak sempatik sinir uçlarından salınan katekolaminler tarafından düzenlenen kontraktilite özelliklerine sahip, testisi çevreleyen ince bir doku tabakasıdır. Testis kapsülünün kasılma aktivitesi, spermin seminifer tübüllerden epididimise doğru geçişini destekler ve disfonksiyonu, erkek fertilesini azaltabilir (Dantas Da Silva Júnior ve ark. 2014). Yapılan birçok çalışma endojen opioid peptitlerinin birçok farklı testis hücresinde var olduğunu göstermiştir. Ayrıca bu çalışmalarda 3 farklı tip opioid reseptörlerin (MOR, DOR ve KOR) varlığı belirlenmiş ve açıklanmıştır (Pintar ve ark. 1984).

Bu bilgiler ışığında sıçan testis kapsülü ile ilgili yapılan çalışmalarda hem izole organ banyosunun kullanıldığı, hem de opioid bağımlılık modelinin uygulandığı bir çalışmaya literatür taramasında rastlanmamıştır. Testis kapsülünün kasılma özelliklerini belirlemek ve morfin bağımlılığı oluşturulmuş sıçanlarda bu durumda nasıl bir değişiklik olduğunu gözlemek, sperm üretiminden üretilen spermlerin epididimise ulaşması açısından önemlidir. Bu yüzden bu projede deneysel olarak morfin bağımlılığı oluşturulmuş sıçanlarda testis kontraksiyonu değişimleri gözlemlenmiştir.

2. TEMEL BİLGİLER

2.1 Testisin fizyolojik anatomisi

Embriyonik gelişim evrelerinde testisler anterior abdominal boşluk duvarına yapışık halde, çift olarak bulunur ve oval şekildedirler. Testisler gebeliğin son 2-3 ayında inguinal kanal yolu ile skrotuma ulaşırlar. Testosteron salgısı skrotuma inmede önemli rol alır. Testisler üç kaynaktan köken alır. Bunlar; ara mezoderm, mezodermal epitel ve primordiyal germ hücreleridir. Testislerin skrotum içindeki sıcaklığı normal vücut sıcaklığından 2-3°C daha düşük olmalıdır, çünkü bu sıcaklık spermatogenez için en uygun sıcaklıktır. Fakat hormon üretimi için düşük sıcaklığa gerek yoktur. Eğer testisler yüksek sıcaklıkta kalırsa, skrotuma inişi tam olarak gerçekleşmez, bu nedenle sperm üretimi de gerçekleşemez. Testislerin bu sıcaklıkta kalmasını sağlayan temel birkaç özellik vardır. Bunlardan birincisi; abdominal aortadan köken alıp testislere gelen testiküler arter ile testislerden çıkan venöz kan arasında gerçekleşir. Venöz kan serindir ve arteriyel kan ise venöz kana göre daha sıcaktır. Bu iki kan akımı arasında ısı değiştiricisi olarak görev yapan pampiniform pleksus kan damarlarıdır. Soğuk venöz kan bir zıt yönlü akım sıcaklık değiştiricisi olarak işlev gösterip arteriyel kan testislere girmeden önce soğumasını sağlar. İkincisi ise sıcaklıktaki değişikliklere yanıt veren kremaster kasıdır. Bu kas sıcaklık değişikliklerine göre kasılıp testisleri abdominal duvara yaklaştırır ya da gevşeme ile testisleri skrotumun içinde aşağıya doğru indirir. Testisler sperm üretimi, depolanması, saklanması ve hormon üretiminden sorumludur. Testisler hem sperm üretim merkezi, hem de hormonal olarak işlev görürler. Testosteron hormonu leydig hücrelerinde (interstisyel hücreler) meydana gelirken, sperm üretimi seminifer tübüllerde gerçekleşir (Guyton, 2017; Ross ve Pawlina 2014).

2.2 Testisin yapısı

Testis kapsülü, testisleri ve seminifer tübülleri kaplayan ince fibröz bir dokudur. Memelilerden alınıp incelenen testis kapsülü dört farklı doku katmanından oluşur: Tunika vaginalis (epiorchium ve periorchium), submezotelyal katman, tunika albuginea ve tunika vasküloza (gevşek bağ dokusunun iç katmanı). Testisler karın içerisinden skrotuma inerken önlerinde bulunan peritonu da kendileriyle birlikte götürürler. Peritonun paryetal ve visseral tabakaları tunika vaginalisi oluşturur. Tunika vaginalisin testisi örten iç yaprağına epiorchium denirken; daha dışta bulunan tabakaya ise *periorchium* adı verilir. Tunika vaginalisin altında bulunan tunika albuginea, testis

kapsülünün ana bileşenidir ve fibroblastlar, miyofibroblastlar, kollajen lifler, düz kas, ektopik Leydig hücreleri, sinir uçları ve kan damarlarından oluşur. İnsan testis kapsülünde, tunika albuginea'nın dış bölgesinde miyofibroblastlar, iç bölgelerde ise düz kas hücreleri baskındır. Kalın, sert bir bağ doku olan tunika albuginea iki testisi de sarar. Bu bağ doku kapsül yapısındadır. Kapsülün iç kısmı olan tunika vasküloza kan damarlarını içerir ve gevşek bir bağ dokusudur. Her testis kapsülden ayrılan bağ dokusu uzantıları ile ayrılan yaklaşık 250 lobüle ayrılmıştır. Tunika albuginea testisin posterior duvarı boyunca kalınlaşır ve mediastinum testis olarak devam eder. Lenf damarları, kan damarları ve boşaltım kanalları mediastinumun içinden geçerek işlevlerini yerine getirir. Oluşan bu lobüller yaklaşık 1-4 adet kıvrımlı seminifer tübülünden ve Leydig hücrelerinden oluşur. Her bir tübül 150-250 um genişliğinde ve yaklaşık 50 cm uzunluğundadır. Seminifer tübüller oldukça kıvrımlı bir yapıdadır ve lobülün içinde kıvrılarak kendi üzerlerine katlanırlar. Seminifer tübüller 3 farklı hücre tipinden oluşur. Bunlar; miyoid hücreler, sertoli hücreleri ve kollajen fibriller. Seminifer tübülleri çevreleyen bazal bir membran vardır. Bazal membrana ek olarak peritübüler hücre tabakası da seminifer tübülü çevreler. Bu dokuya tunika propriya denir, fibroblastlardan yoksundur. Bu tabakalar seminifer tübüllerin bazal laminasının dış tarafına doğru 4-5 sıra miyoid hücreden ve kollajen fibrillerinden oluşmaktadır. Miyoid hücreler oldukça fazla miktarda aktin filamentleriyle düz kas hücrelerine benzer özellikler gösterirler. Miyoid hücreler fibroblast içermedikleri için bu fibroblastların kollajen sentezleme görevlerini içerdikleri granüllü endoplazmik retikulum yerine getirmektedir. Yaşlılıkta tunika propriya kalınlaşır ve bu kalınlaşmanın sonucu olarak sperm üretim hızında düşüş meydana gelir. Miyoid hücrelerin ritmik kasılmaları spermin ve testiküler sıvının boşaltım kanalına geçişini sağlar. Kısaca, peritübüler tabakada bulunan hücreler düz kas benzeri hücrelerdir ve peristaltik hareket yaparak spermlerin epididime ulaşmasını sağlarlar. Bazal membran miyeloid hücrelerden meydana gelir. Bazal membranın iç tarafında prizma benzeri, büyük sertoli hücreleri bulunur. Germ hücreleriyle birlikte bazal membranın duvarını kaplarlar. Sertoli hücreleri destek hücreleri olarak da bilinir. Spermatogenik hücreleri çevreler ve spermatogenez sırasında sperm hücrelerinin gelişiminde önemli rol oynar. Ayrıca sıkı bağlantılar (zonula okludens) ile birlikte kan testis bariyeri oluşumuna katkı sağlar. Kan testis bariyerinin görevi; testis içindeki genetik materyalin korunması ve gelecek nesillere aktarılmasıdır. Kan ve çevre dokudan gelecek herhangi bir yabancı

maddeye karşı korur. Antijen geçişini engeller ve otoimmün hastalıkların etkisinden korur (Rhoades 2017; Ross ve Pawlina 2014).

Adrenerjik sinirlerin esas olarak sıçan testis kapsülünü innerve ettiği, kolinerjik liflerin ise bu dokuda seyrek olarak dağıldığı gösterilmiştir (McLean ve Bell 1973; Campos ve ark. 1990). Sıçan testis kapsülüne adrenerjik innervasyonun üst ve alt spermatik sinirler tarafından sağlandığı bildirilmiştir. Adrenerjik sinir uçlarının yanı sıra kalsitonin geni ile ilişkili peptit ve met-enkefalin içeren sinir lifleri de insan testis kapsülünde gösterilmiştir (Tainio 1994). Testiküler kapsülün adrenerjik innervasyonunun çoğu, testiküler arterin ilk segmentinden ve superior venöz pleksustan kaynaklanan intrakapsüler kan damarları ile ilişkilidir. Ayrıca, kan damarı olmayan alanlarda varis görünümüne sahip adrenerjik lifler hakkında da kanıtlar vardır (Bell ve McLean 1973). Bu adrenerjik lifler büyük olasılıkla tunika albuginea düz kas hücrelerinin motor aktivitesini modüle etmektedir (McLean ve Bell 1973; Jurkiewicz ve ark. 2006).

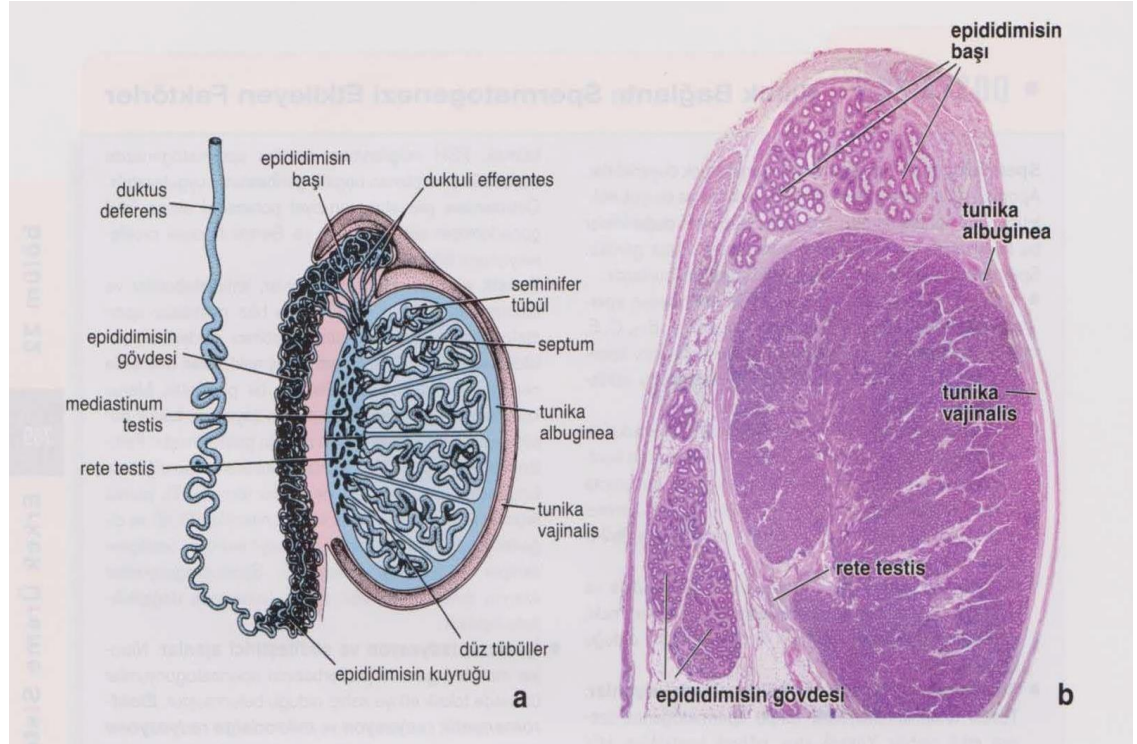
Sperm hücrelerinin en olgunlaşmamış hali olan spermatogonya, bazal membranda sertoli hücrelerinin arasında yerleşmiş bir şekilde bulunmaktadır. Diploid yapıdadır ve mitozu seminifer tübüllerin bazal kısmında gerçekleşir. Olgunlaşan her bir spermatogonik hücre lümene doğru göç etmeye başlar (Ross ve Pawlina 2014).

Sertoli hücreleri bilindiği gibi germ hücreleri ile sitoplazmik bir yapışıklık içerisindedir. Bu yüzden germ hücrelerinin gelişimlerinde önemli rol oynar. Bu hücreler puberteden sonra çoğalma göstermezler. 6-12 adet spermatid sertoli hücresine bağlanabilir. Sertoli hücrelerinin görevleri arasında fagositoz da vardır. Rezidüel maddeleri ve hasarlanmış germ hücrelerini fagositozla yok eder. Germ hücreleri için besin sağlar, müllerien inhibe edici faktör salgılar ve sperm gelişimi için önemli olan demir taşıyıcı protein transferrini oldukça fazla sayıda üretir. Sertoli hücrelerinden aktivin, inhibin gibi maddelerde salgılanır (Ross ve Pawlina 2014).

İnterstisyel hücreler olarak da bilinen leydig hücreleri testiste hormon üretiminden sorumlu hücrelerdir. Luteinizan hormon bu hücreleri uyararak hormon üretimini sağlar. Leydig hücreleri kümeler halinde bulur ve büyük, çokgen şeklinde eozinofilik hücrelerdir. Bu hücreler, steroid hormonları çok sayıda mitokondri, düz endoplazmik retikulum ve lipit damlacıkları içermesiyle steroid üretecek şekilde özelleşmişlerdir. Erken fetal dönemde farklılaşarak testosteron üretirler. Testosteronun

salgılanması embriyonik dönemde erkek fetusunda gonadların olağan gelişimi için gereklidir. Puberte döneminde ise sperm üretiminin başlaması ve ikincil seks karakterlerinin gelişiminde önemli rol oynar. Yetişkin bireylerde sperm üretiminin ikincil seks karakterlerinin ve genital boşaltım kanallarının devamlılığı için testosteron üretimi gereklidir (Guyton 2017, Rhoades 2017).

Leydig hücrelerinde luteinizan hormon (LH) reseptörü bulunurken, folikül stimüle edici hormon (FSH) reseptörü bulunmamaktadır. Fakat FSH sertoli hücrelerinden salgılanan büyüme faktörlerinin üretimini artırır. Bu büyüme faktörleri leydig hücrelerinin miktarını ve büyümesini artırır. LH'nin en belirgin etkisi siklik adozin monofosfat (cAMP) bağımlı kinaz aracılığı ile androjen salgısını arttırmaktadır. Leydig hücreleri testosterona ek olarak dihidroepiandrosteron ve androstenedion üretimini de gerçekleştirir (Rhoades 2017).



Şekil 2.1. Testis Dokusunun Anatomik ve Histolojik Görüntüsü (Ross ve Pawlina 2014).

2.3 Düz kas

2.3.1 Düz kas yapısı

Düz kaslar organizmada geniş yayılım gösteren kalp kası hariç tüm iç organlarda bulunan bir kas tipidir. Sindirim sistemi, boşaltım sistemi, damarlar, solunum sistemi gibi yapılarda bulunmaktadır. İskelet kasına göre daha küçük liflerden oluşur. Uzunluğu yaklaşık 20-500 mikrometre, çapı ise 1-5 mikrometredir. Tek bir nükleus içerirler ve mekik şeklindedirler. Düz kas hücreleri gap junction benzeri özel

bağlantı yapıları ile birbirleriyle ilişki kurarlar. Düz kas hücrelerinde mitokondri azdır, transvers tübül yoktur ve kalp kasında olduğu gibi sarkoplazmik retikulum (SR) iyi gelişmemiştir. Düz kaslarda Z çizgisi yerine yoğun cisimcikler (dense body) görev alır. Aktin filamentleri bu yoğun cisimciklere bağlanır. Yoğun cisimciklerin bazıları hücre zarında, bazıları ise sitoplazmada dağınık halde bulunur. Bu dağınıklık yüzünden aktin ve miyozin filamentleri çizgili bir yerleşim göstermez. Düz kasta troponin bulunmaz. Troponin yerine kalsiyum bağlayıcı molekül olan kalmodulin bulunur. Düz kaslarda iskelet kasındaki gibi bir sinir kas kavşağı yoktur. Bu yapı yerine düz kası innerve eden otonom sinir lifleri düz kas tabakası üzerinde yayılım gösterir. Düz kaslar çok birimli düz kas ve tek birimli düz kas olmak üzere 2 temel tipe ayrılır (Guyton 2017).

2.3.2 Çok birimli düz kas

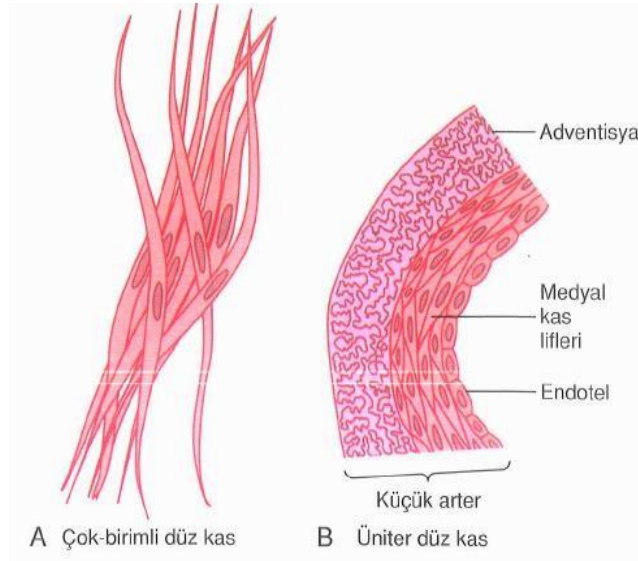
Birbirinden ayrılmış düz kas liflerinden oluşur. Her bir lif bağımsız olarak işlev görür ve tek bir otonom sinir her bir lifi innerve eder. Kısaca bir sinir lifi çok sayıda kas lifini kontrol eder. Çok birimli düz kas liflerinin dış yüzleri, lifleri birbirinden ayıran ince kollajen ve glikoprotein yapılarının karışmasından oluşan ince bir zar tabaka ile kaplıdır. Çok birimli düz kas liflerinde her bir lif birbirinden bağımsız bir şekilde kasılır ve gerilmeye karşı kasılma aktivitesi göstermezler. Liflerin kasılması sinir sinyalleri aracılığı ile kontrol edilir. Hormonlara karşı ise düşük düzeyde cevap oluştururlar. Tek birimli düz kaslar ise daha çok sinir dışı uyarılar vasıtası ile kontrol edilir. Çok birimli düz kaslara örnek olarak gözde bulunan siliyer kas, iris kası ve sempatik uyarı ile tüylerin diken diken olmasını sağlayan piloerektör kaslar verilebilir (Guyton 2017).

2.3.3. Üniter (visseral, tek birimli) düz kaslar

Üniter düz kas lifi terimi aslında tek bir hücreyi kastetmez. Tek bir birim gibi davranıp kasılmayı gerçekleştiren yüzlerce veya binlerce düz kas lifinin birlikte bir sinsityum oluşturarak kasılması anlamına gelir. Bu liflerin hücre zarları birbirine yapışıktır. Bu sayede bir kas lifinden diğer kas lifine kasılma kolayca aktarılır. Bu konuyu açacak olursak; hücre zarları aksiyon potansiyelinin bir kas hücresinden yanında bulunan kas hücrelerine geçişini kolaylaştıran ve basit iyon akımlarının hemen gerçekleşmesini sağlayan yarık bağlantılar oluşturur. Bu yarık bağlantılar kalpkasında da bulunur. Bu yarık bağlantılar sinsityum oluşturmada oldukça önemlidir.

Üniter kas liflerine örnek olarak uterus, gastrointestinal sistem elemanları, üreter, kan damarları verilebilir (Guyton 2017).

Üniter düz kasların membran potansiyeli düzenli değildir. Üniter düz kasların kasılma düzenleri sinir dışı uyarılara oldukça bağımlıdır bu yüzden kasılma düzenleri de farklılık gösterir. Hormonlar, oksijen konsantrasyonu, asidite, ozmolarite gibi faktörler kas gerimini etkiler. Üniter düz kasların kontraksiyonu parasempatik ve sempatik uyarı mekanizmalarıyla da düzenlenir. Biri uyarıcı etki gösterirken; diğeri inhibe edici etki gösterir (Guyton 2017).



Şekil 2.2. Çok Birimli Düz Kas ve Üniter Düz Kasın Yapısı (Guyton 2017).

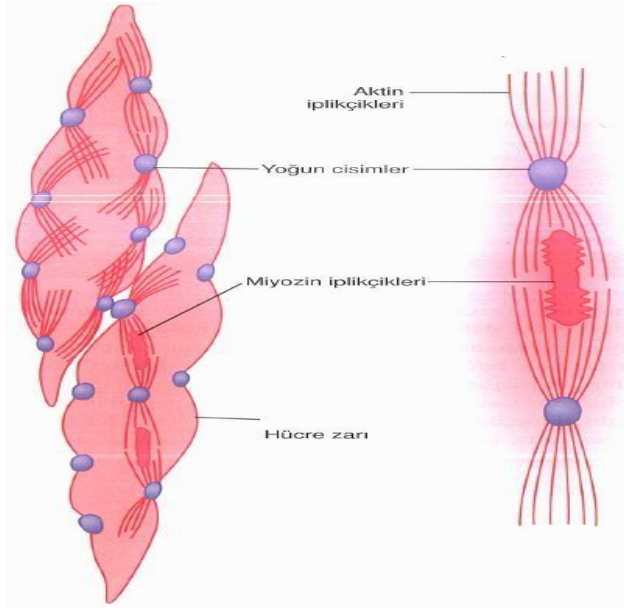
2.3.4. Düz kasta kasılma mekanizması

Düz kas kasılma mekanizması ile ilgili yapılan çalışmalarda gözlemlenen aktin ve miyozin iplikçiklerinin iskelet kasındakine oldukça benzer bir şekilde gerçekleştiği ortaya konmuştur. Kasılma sürecinin başlamasında kalsiyum iyonları görev alır ve kasılma için gerekli olan enerji adenozin trifosfat (ATP) ile sağlanmaktadır. Bu benzerliğin aksine uyarılma kasılma eşleşmesi, kas kasılma süresi, gereken enerji miktarı gibi konularda iki kas tipi arasında oldukça büyük farklılıklar vardır (Guyton 2017).

Düz kastaki spesifik uyarılara yanıt olarak, hücre içi Ca^{+2} konsantrasyonu artar ve bu Ca^{+2} , asidik bir protein olan kalmodulin ile birleşir. Bu kompleks, miyozinin hafif zincirini fosforile etmek için miyozin hafif zincir kinazını (MLC kinaz) aktive eder. Hücre içi Ca^{+2} , hücre içi depolardan Ca^{+2} salınımı ve ayrıca hücre dışı boşluktan Ca^{+2} kanalları yoluyla giriş yoluyla artar. Serpantin reseptörlerine

bağlanan agonistler (norepinefrin, anjiyotensin II, endotelin, vb.), bir heterotrimerik G proteinine bağlanarak fosfolipaz C aktivitesini uyarır. Bu enzim, iki güçlü ikinci habercinin oluşumunu katalize etmek için membran lipid fosfatidilinositol 4,5-bisfosfat için özeldir: inositol trifosfat (IP3) ve diaçil-gliserol (DG). IP3'ün sarkoplazmik retikulum üzerindeki reseptörlere bağlanması, Ca⁺²'nin sitozole salınmasıyla sonuçlanır. DG, Ca⁺² ile birlikte, spesifik hedef proteinleri fosforile eden protein kinaz C'yi (PKC) aktive eder. PKC, L-tipi Ca⁺² kanallarının fosforilasyonu veya çapraz köprü döngüsünü düzenleyen diğer proteinler gibi kasılmayı teşvik edici etkilere sahiptir. PKC'yi aktive ettiği bilinen bir grup sentetik bileşik olan forbol esterler, DG'nin etkisini taklit eder ve düz kasın kasılmasına neden olur. Son olarak, zardaki L-tipi Ca⁺² kanalları da düz kas hücresinin gerilmesiyle ortaya çıkan zar depolarizasyonuna yanıt olarak açılır (Webb 2003).

MLCkinazın Ca⁺²'ye bağımlı aktivasyonuna ek olarak, miyozin hafif zincir fosforilasyonu, düz kas gevşemesini desteklemek için yüksek enerjili fosfatı miyozinin hafif zincirinden uzaklaştıran MLC fosfataz tarafından ayrıca düzenlenir. MLC'nin üç alt birimi vardır. fosfataz: 37 kDa katalitik alt birim, 20 kDa değişken alt birim ve 110 ila 130 kDa miyozin bağlayıcı alt birim. Miyozin bağlayıcı alt birim, fosforile edildiğinde, MLC fosfatazın enzimatik aktivitesini inhibe ederek, miyozinin hafif zincirinin fosforile kalmasına izin vererek, kasılmayı teşvik eder. Küçük G proteini RhoA ve alt hedef Rho kinazı, MLC fosfataz aktivitesinin düzenlenmesinde önemli bir rol oynar. Bir serin/treonin kinaz olan Rho kinaz, MLC fosfatazın miyozin bağlayıcı alt birimini fosforile eder, aktivitesini inhibe eder ve böylece miyozin hafif zincirinin fosforillenmiş durumunu destekler. Ratlarda, Rho kinazın farmakolojik inhibitörlerinin arterlerdeki düz kasın gevşemesine neden olarak kan basıncını düşürücü bir etkiye neden olduğu gösterilmiştir (Barany 1996; Solaro 2000; Chitaley 2001).



Şekil 2.3. Üniter Düz Kas ve Çok Birimli Düz Kasta Aktin ve Miyozin İplikçiklerinin Dağılımı

Düz kasta bilindiği gibi iskelet kasındaki gibi çizgili bir yerleşim yoktur. Düz kasta çok sayıda aktin iplikçiklerinin yoğun cisimlere tutunduğu bir fiziksel düzen vardır (şekil 2.3). Bu yoğun cisimlerin bazıları hücre zarına tutunmuş halde bulunurken bazıları da hücre içinde dağınık halde bulunur.

Şekil 2.3. incelendiğinde yoğun cisimlerden karşılıklı olarak çok sayıda aktin iplikçigi yayılmaktadır. Tam ortalarında ise miyozin iplikçigi bulunur. Elektron mikroskopu ile incelendiğinde aktin iplikçiklerinin kesiti miyozin iplikçiklerinin yaklaşık 5-10 katı kadardır. Aslında aktin iplikçiklerinin arasında serpiştirilmiş miyozin iplikçikleri iki yoğun cisim arasında tam ortada bulunmaktadır. Bu yapı düz kasta kasılabilir birimi oluşturur. İskelet kasındaki gibi bir düzen yoktur ve Z çizgisi yerine yoğun cisimcikler görev alır (Guyton 2017).

Miyozin iplikçikleri yan kutup adı verilen çapraz köprüler ile düzenlenir. Bunun anlamı bir taraftaki çapraz köprüler bir yöne bakarken diğer taraftakiler zıt yöne doğru bakarlar. Bu yapılar bir aktin iplikçigini bir uçtan bir doğru ile çekerken başka aktin iplikçigini ise aksi yönde çekerek kas boyunun daha az kışalmasını sağlar (Guyton 2017).

2.3.4.1. Düz kas ile iskelet kasının kasılmalarının karşılaştırılması

İskelet kasları oldukça hızlı bir şekilde kasılıp gevşerken, düz kaslar bazen saatler hatta günler süren tonik kasılma davranışı gösterirler. Aslında bu iki kas arasındaki bazı temel fiziksel ve kimyasal farklılıklar sonucu kasılma sürelerindeki farklılıklar meydana gelir (Guyton 2017).

Bu temel farklılıkları inceleyecek olursak ilki miyozin çapraz köprüleri arasındaki farklılıktır. Düz kastaki çapraz köprü döngüsü iskelet kasına göre yavaştır. Bunun nedenlerinden biri ise çapraz köprülerin aktine bağlı olduğu sürenin düz kasta daha uzun olmasıdır. Ayrıca çapraz köprü başlarında kasılmanın gerçekleşmesi için gerekli enerjinin kaynağı olan ATPaz molekülünün daha az bulunmasıdır. Düz kasta kasılmanın devam etmesi içinde oldukça az enerjiye ihtiyaç vardır. Kas kasılmasının devam etmesi için gerekli enerji iskelet kasındakine göre yaklaşık 1/10 ile 1/300 kadardır. Düz kaslar bu yüzden tutumlu kaslardır. Oldukça az enerjiyle tonik kasılmalarını sürdürürler. Düz kaslara tek tek değil de, doku halinde baktığımızda kasılma ve gevşeme başlangıcı da iskelet kasına göre oldukça yavaştır. Bir düz kas dokusu uyarıldıktan 50-100 milisaniye sonra kasılmaya başlar ve 1-2 saniye sonra gücünde önemli ölçüde azalış meydana gelir. Yani toplam kasılma süresi 1-3 saniyedir. Bu süre ise iskelet kasındaki tek bir kasılmanın neredeyse 30 katıdır. Düz kaslarda kasılma yavaş başlaması ve kasılmanın süresinin de uzun olması çapraz köprülerde aktin ve miyozin iplikçiklerinin gerçekleştirdiği reaksiyonların yavaş gerçekleşmesidir. Ayrıca iskelet kasına göre kalsiyum iyonlarına bağlı yanıtların oldukça yavaş olması da bu sürenin uzamasında önemli rol oynar. Düz kas ile iskelet kası arasındaki farklılıklardan biri ise kasılma gücüdür. Şaşırtıcı şekilde maksimum kasılma gücü düz kasta iskelet kasına göre daha büyüktür. Bunun sebebi ise miyozin çapraz köprülerinin aktin iplikçiklerine bağlı olma süresinin uzun olmasıdır. Düz kaslar bir kez tam kasıldıktan sonra kasılmanın devam etmesi için oldukça az enerji ihtiyacı vardır. Ayrıca tonik kasılmanın devam edebilmesi için az miktarda sinirsel ve hormonal uyarıcı gereklidir. (Guyton 2017; Rhoades 2017).

2.3.4.2. Düz kas kasılmasında kontraksiyonun kalsiyum iyonları ile düzenlenmesi

Düz kaslar iskelet kasındaki gibi troponin içermez. Bunun yerine kasılmayı düzenleyen kalmodulin adı verilen bir protein içerir. Kalmodulin miyozin çapraz köprülerini aktive eder ve kasılmayı başlatır. Kalmodulin ile troponinin farkı, kasılmayı başlatma biçimindeki farklılıktır (Guyton 2017).

Düz kas kasılması şu sırayla meydana gelir; hücre dışındaki sıvıdan veya SR'den hücre içine giren kalsiyum sitozoldeki kalsiyum konsantrasyonunu artırır. Ardından kalsiyum iyonları kalmoduline bağlanarak kalsiyum kalmodulin kompleksi oluşturur. Bu kompleks, fosforile edici bir enzim olan miyozin hafif zincir kinaz ile birleşir ve onu aktif hale getirir. Miyozin başlarında bulunan düzenleyici zincir denilen

hafif zincirler bu kinaz ile fosforile olurlar. Bu fosforillenme sayesinde miyozin ile aktinin çapraz köprü kurması gerçekleşir. Ardından da iskelet kasındaki gibi aktin ve miyozin iplikçikleri birbirini çeker ve kas kasılması meydana gelir (Guyton 2017).

2.3.4.3. Kasılmaya neden olan kalsiyum iyon kaynakları

Çizgili kasta T tübüleri bulunurken, düz kasta kaveola adı verilen plazma zarının daha ilkel ve sığ invajinasyonları vardır. Düz kas hücreleri hücre içi kalsiyum konsantrasyonunu arttıran 3 farklı yol kullanır: Birincisi depolarizasyona yanıt olarak L-tipi kalsiyum kanallarından Ca^{+2} girişi. İkincisi SR'den Ca^{+2} girişi ve üçüncüsü voltaj bağımsız kanallar aracılığıyla Ca^{+2} girişi (Boron ve Boulpaep 2017). İskelet kasına benzer şekilde kasılma birimi kalsiyum iyonlarının aktivasyonu ile kasılma gerçekleşir. Fakat kalsiyum iyonlarının kaynakları iskelet kasına göre farklıdır. Hücre dışı sıvıdan hücre içine giren kalsiyum iyonları ayrıca SR'den de kalsiyum salınmasına neden olur. Düz kas hücresi içindeki kalsiyum iyon konsantrasyonu 10^{-7} iken hücre dışı sıvıda 10^{-3} molardan daha büyüktür. Bu yüzden hücre zarındaki kalsiyum iyon kanalları açılır ve hücre içine kalsiyum girişi olur. Bu girişin olabilmesi için gerekli süre genellikle 300 milisaniyedir ve bu da kasılma başlamadan hemen önceki latent evredir. Bu dönem iskelet kasındaki latent döneme göre yaklaşık 50 kat daha uzundur (Guyton 2017; Rhoades 2017).

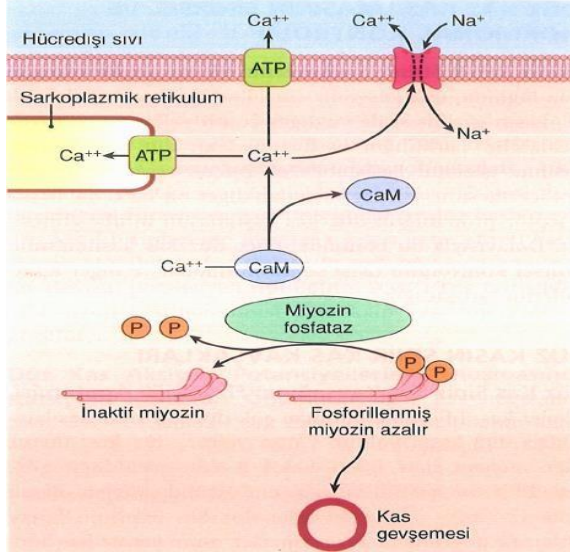
2.3.4.4. Düz kasta sarkoplazmik retikulum ve görevi

Düz kas hücrelerinde az gelişmiş sarkoplazmik tübüller görülür. Ayrıca bu tübüllere bitişik halde bulunan hücre zarı girintileri bulunur. Bunlara kaveol denir. Kaveoller iskelet kasındaki T-tübüllere benzer ama daha az gelişmiş halidir. Çünkü aksiyon potansiyeli sırasında T-tübüllerin SR sisternalarından kalsiyum iyonlarının salıvermesi gibi kaveollerin bitişğinde bulunduğu sarkoplazmik tübüllerden kalsiyum salıverilmesini sağlar (Guyton 2017; Rhoades 2017).

2.3.4.5. Düz kasta gevşeme mekanizması

Düz kas gevşemesi için hücre içindeki kalsiyum iyonlarının hücre dışına çıkarılması gerekir. Hücre zarında bulunan Ca^{+2} pompası veya eğer mevcutsa SR'de bulunan bir Ca^{+2} pompası ile Ca^{+2} iyonları hücre dışına çıkarılır. Hücre zarında bulunan kalsiyum kanalları kapandığında ve kalsiyum pompası Ca^{+2} iyonlarını hücre dışına çıkardığında gevşeme meydana gelir. Gevşemenin meydana gelmesinde en önemli düzenleyici miyozin fosfataz adındaki enzimdir. Gevşeme sırasında miyozin başının fosforillenmesi dışında tüm olaylar tersine işler. Miyozin fosfataz ise hafif zincirden

fosfatı ayırır ve miyozinler inaktif hale gelir. Gevşeme için gereken zaman önemli ölçüde miyozin fosfataz miktarına bağlıdır (Guyton 2017).



Şekil 2.4. Düz Kas Gevşeme Mekanizması (Guyton 2017).

2.3.4.6. Düz kas kasılmasının sinirsel ve hormonal kontrolü

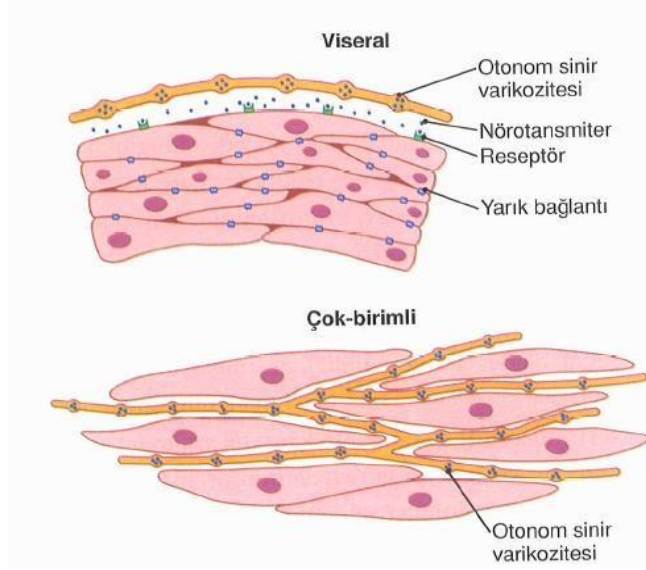
Düz kasların kasılması hem sinirsel hem de hormonal uyarı ile düzenlenir. İskelet kasında ise sadece sinirsel uyarı vardır. İskelet kasındaki sinirsel uyarı hep eksitatoryüdür. Fakat düz kaslarda hem uyarıcı hem de inhibe edici olabilir. Bu farklılığın sebebi düz kaslarda birçok farklı protein yapıları reseptörün bulunmasıdır. Düz kaslar sinirsel, hormonal, lokal faktörler, kas gerilmesi ve diğer faktörler tarafından uyarılır (Guyton 2017).

2.3.4.7. Düz kasta sinir-kas kavşağı

Düz kas liflerindeki sinir- kas kavşağı iskelet kasındaki gibi düzenli değildir. Şekil 2.6. İncelendiğinde düz tabakasını innerve eden bir otonom sinir kas-kavşağı görülmektedir. Bu lifler iskelet kasındaki gibi doğrudan hücre zarına temas etmez. Kas hücrelerinden birkaç nanometre uzaklıktaki düz kasın matriksine kimyasal aracı molekül salgılayan difüz bağlantılar bulunur. Bu transmitterin görevi aksiyon potansiyelini ve uyarıları hücrelerin en iç taraflarına kadar götürmektir. Çünkü sinir lifleri sadece dış tabakayı uyardığı için, uyarının iç taraflara da ulaşması gerekir (Guyton 2017).

Düz kas liflerini innerve eden aksonlarda önemli bir yapı daha vardır. Terminal aksonlar genişleme yaparak varikozite adı verilen yapıyı oluşturur. Transmitter maddeler bu yapının duvarından salgılanmaktadır. İskelet kasında daima asetilkolin

salgılanırken, bazı sinir liflerinin varikozitelerinden ise asetilkolin bazılarında ise norepinefrin veya başka maddeler salgılanabilir (Guyton 2017).



Şekil 2.5. Visseral ve Çok Birimli Düz Kas Tiplerinin Gösterimi (Guyton 2017).

2.3.4.8. Düz kas sinir-kas kavşağında salgılanan aktive edici ve engelleyici transmitter maddeler

Otonom sinir sonlanmalarından salgılanan ve düz kasları innerve eden en önemli nörotransmitterler asetilkolin ve norepinefrindir. Bu iki aracı molekül aynı sinirden salgılanmaz. Ayrıca birinin uyarıcı olduğu düz kasta diğeri engelleyici özellik gösterir. Birbirlerine zıt şekilde çalışırlar. Bunun nedeni ise düz kas liflerinin hücre zarında bulunan eksitatör ve inhibitör reseptörlerin varlığıdır. Dokuda hangi reseptör yaygınsa onun oluşturduğu cevap ilerlemeye devam eder. Bu yüzden düz kaslarda farklı yanıtlar oluşur (Guyton 2017; Rhoades 2017).

2.3.4.9. Düz kasta aksiyon potansiyelleri

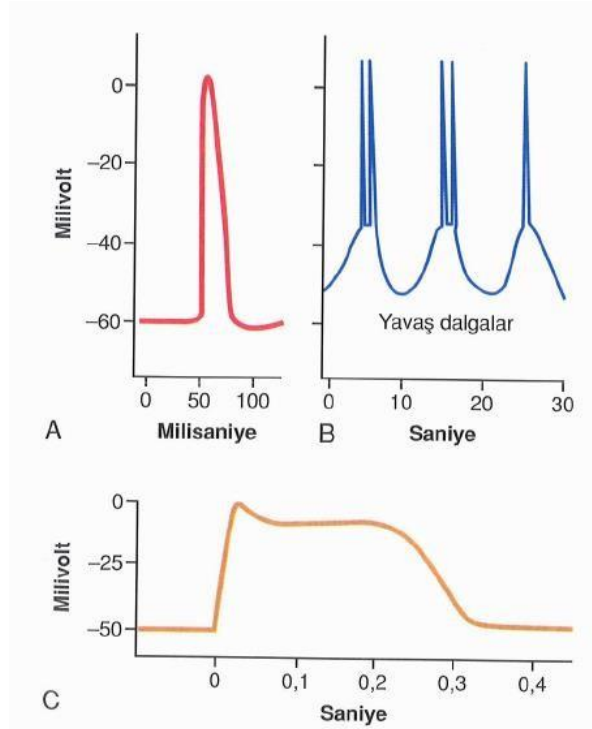
Düz kasta aksiyon potansiyelleri, üniter düz kasta ve çok birimli düz kasta farklı gerçekleşir. İskelet kasındaki aksiyon potansiyeline benzer aksiyon potansiyeli üniter düz kasta ve çok birimli düz kasta görülebilir. Bazı düz kas hücreleri de kalp kasındaki aksiyon potansiyeline benzer uzun süreli plato fazı ile karakterize aksiyon potansiyelleri gösterirler. Düz kas hücreleri, hormonal ve mekanik uyarılara karşı membran potansiyelinde değişiklik gösterirler. Ayrıca çoğu düz kas hücresi kendi kendine uyarı çıkarma yeteneği sayesinde aksiyon potansiyelini başlatır (Boron ve Boulpaep 2017).

2.3.4.9.1. Üniter düz kasta aksiyon potansiyeli

Üniter düz kaslarda aksiyon potansiyeli iskelet kasına benzer şekilde oluşur. Bu kaslarda aksiyon potansiyeli 2 şekilde meydana gelir: Dikensi aksiyon potansiyeli ve platolu aksiyon potansiyeli (Köylü 2019).

Birçok üniter düz kasta iskelet kasına benzer dikensi potansiyel oluşur. Bu aksiyon potansiyeli sinirsel uyarı, hormonal uyarı, gerim etkisi vb. birçok yolla oluşabilir. Aksiyon potansiyeli süresi 10-50 milisaniyedir (Köylü 2019).

Platolu aksiyon potansiyeli ise ureter ve uterusu görülür. Başlangıçta dikensi potansiyelle benzerlik gösterirken plato oluşumu sırasında görev alan farklı kanallar vardır. Düz kas liflerinde iskelet kasına göre daha az sodyum kanalı ve daha çok kalsiyum kanalı vardır. Kalsiyum kanalları yavaş açılır ve bu açık kaldığı süre sodyum kanallarına göre oldukça fazladır. Bu yüzden aksiyon potansiyelinin başlaması ve devamı için kalsiyum kanalları oldukça önemlidir. Kalsiyum kanallarının bu özelliğinden dolayı plato oluşur. Plato oluşumu ayrıca kalp kası hücrelerinde de görülür (Guyton 2017).



Şekil 2.6. Üniter Düz Kasta Görülen Aksiyon Potansiyelleri (Guyton 2017).

Şekil 2.6'da üniter düz kasta aksiyon potansiyeli oluşturan dikensi potansiyeller ve yavaş dalgalar görülmektedir. Üniter düz kas hücrelerinde membran potansiyeli belirli bir seviyede bulunmaz, sürekli değişkendir. Ayrıca dışardan bir

uyaran olmadan da kendisi aksiyon potansiyeli meydana getirir. Bağırsaklarda bulunan düz kaslarda görülen bu duruma yavaş dalga ritmi denir. Bu dalga aksiyon potansiyeli değildir. Düz kas liflerinin bir özelliğidir ve tam nedeni bilinmemektedir. Bu dalgalar vasıtasıyla hücre zarı dinlenim potansiyeli -35 mv 'un üzerine kadar çıktığında bu potansiyel bir aksiyon potansiyelinin doğmasına neden olur. Dalga her pik yaptığında bir veya daha fazla aksiyon potansiyeli doğabilir. Bu yüzden budalgalara pacemaker dalgaları adı da verilir. Bazı düz kas hücrelerinde ise aksiyon potansiyelinin repolarizasyon döneminde dalgalar kalp kasındakine benzer şekilde plato çizerler (Boron ve Boulpaep 2017; Guyton 2017; Köylü 2019).

2.3.4.9.2. Çok birimli düz kasın aksiyon potansiyeli

Çok birimli düz kas lifleri sinir uyarılarına yanıt olarak kasılırlar. Bu sinirsel uyarıların sonucunda çok birimli düz kasların bazılarında asetilkolin bazılarında ise norepinefrin salgılanır. Her iki transmitter de düz kasın depolarize olmasına neden olur. Ancak bu depolarizasyon dalgası aksiyon potansiyelleri meydana getirmez çünkü lifler aksiyon potansiyeli oluşturamayacak kadar küçüktür. Sinir sonlanmalarından salgılanan transmitterler lokal depolarizasyon oluşturarak bütün liflere yayılmasını sağlar ve kasılmayı gerçekleştirir. Örnek olarak silyer kas kasılması ve iris kas kasılması verilebilir (Köylü 2019).

2.3.4.10. Lokal kimyasal doku faktörlerinin kasılmaya etkisi

Küçük kan damarlarına doğrudan ulaşan bir sinir yoktur. Ancak bu damarlarda bulunan düz kaslar kendisini çevreleyen hücrelerarası sıvıdaki kimyasal değişiklikler ve kan basıncındaki değişiklikler nedeniyle oluşan gerilmelere cevap oluştururlar. Lokal kimyasal faktörler ya da hormonal etkiler doğrudan aksiyon potansiyeli oluşturmaz. Aksiyon potansiyelinin başlaması için etkiler meydana getirir (Guyton 2017; Rhoades 2017).

Lokal faktörler yerel vazodilatasyona veya vazokonstrüksiyona neden olur. Bu faktörlerden bazıları; yerel oksijen eksikliği, karbondioksit konsantrasyonu, hidrojen iyon konsantrasyonu, adenosin, laktik asit, vücut sıcaklığı, potasyum ve kalsiyum iyon miktarlarıdır. Örneğin oksijen eksikliği düz kasta vazodilatasyona neden olur. Aşırı CO_2 ve hidrojen iyon konsantrasyonunun artması da vazodilatasyona neden olur (Guyton 2017; Rhoades 2017).

2.4. Opioidler

Opioidler haşhaş bitkisinin (papaver somniferum) alkaloid içeren afyon salgılarından türetilen güçlü ağrı kesicilerdir. Haşhaş hem medikal sebeplerle hem de eğlence için yüzyıllardır kullanılmaktadır. Yaklaşık 30000 yıl öncesine dayanan fosilleşmiş haşhaş tohumlarında yapılan araştırmalar, neandertal insanlar tarafından afyonun kullanıldığını göstermektedir. Ardından opioid kullanımı M.Ö. 4000'li yıllarda Sümerlerde sonrasında Mısır ve Orta Asya'da bulunan uygarlıklarda kullanılmıştır. Afyonun tıbbi kullanımına ilişkin ilk referanslardan biri M.Ö. 3. yüzyılın başlarına rastlanmaktadır. Papaver somniferum'un gövde, yaprak ve meyvelerinin özlerinden oluşan meconiumdan bahseden kişi Yunanlı Theophrastus'tur. Orta çağdan ünlü bir doktor olan Paracelsus (MS 1490–1540) ve öğrencileri afyonu sıklıkla kullanmıştır. 17. yüzyılın tanınmış bir doktoru olan Thomas Sydenham, 1669-1672'de meydana gelen bir dizi dizanteri salgınının tedavisini opioid kullanarak önlemiştir ve bu maddeden tanrının bir mucizesi olarak bahsetmiştir. Bununla birlikte opioidlerin yararlı tıbbi etkilerine ek olarak opioid yoksunluğu da bu dönemde tanımlanmaya başlamıştır. Dr. John Jones 1700'li yıllarda opioidlerin yararlı etkilerine karşın bağımlılık yapıcı etkisi konusunda uyarılarda bulunmuştur. Milattan sonra 1804 yılında ise Friedrich Sertürner, morfin adını verdiği afyonun etken maddesini keşfetmiş ve opioid farmakolojinin doğmasını sağlamıştır. Morfin bu dönemden sonra çeşitli isimler almıştır. Morpheus, Rüya Tanrısı, Morphina, Uyku Tanrısı gibi isimler opioidlerin etkisini anlatmakta oldukça uygundur (McDonald ve ark., 2005; Koob ve ark., 2014). Opioid ilaçlar, morfin benzeri etkilere sahip herhangi bir doğal veya yarı sentetik türev halinde bulunan maddeler olarak tanımlanmaktadır. Morfine benzer etki gösteren sentetik ilaçların geliştirilmesi ve beyinde morfin benzeri etki gösteren maddelerin keşfedilmesi nedeniyle opioid terimi kullanılmaya başlanmıştır ve morfin benzeri etki gösteren hem doğal hem de sentetik tüm ilaçlar olarak tanımlanabilirler. "Opioid" terimi aynı zamanda opioid reseptör agonistleri ve antagonistleri ile aynı reseptörlere bağlanan enkefalinler, dinorfinler ve endorfinler gibi endojen opioid peptitleri de kapsamaktadır (Koob ve ark., 2014).

Birleşmiş Milletlerin 2020 yılında yayınladığı dünya uyuşturucu raporuna göre, opioid kullanan kişiler ve tıbbi olmayan amaçlarla farmasötik opioid kullanan kişiler de dahil olmak üzere yaklaşık 62 milyon kişinin opioid kullanıcısı olduğu tahmin edilmektedir ki bu bilgi 15-64 yaş arası dünya nüfusunun %1,2'sine tekabül

etmektedir. 2010 yılından 2019 yılına kadar dünyadaki opioid kullanan birey sayısı neredeyse iki katına çıkmıştır. Aynı dönemde opioid kullanımının yaygınlığı %76 artarken, küresel nüfus %10 artmıştır.

Opioidler hem kronik hem de akut ağrı tedavisi için kullanılan güçlü ve sistemik olarak etkili ağrı kesicilerdir. Ağrı tedavisinde kullanılmalarına rağmen çok ciddi yan etkileri vardır. Bunlardan bazıları; sedasyon, solunum depresyonu, bağımlılık, uyku bozukluğu, cinsel işlev bozukluğudur. 2018’de ABD nüfusunun %3,6’sı ağrı kesici olarak verilen opioidleri kötüye kullandığı bildirilmiş, ülkede 808.000 eroin kullanıcısı ile kıyaslandığında 12 yaş ve üzeri 9,9 milyon kişi opioidleri kötüye kullanmıştır. Yaklaşık olarak ise 2 milyon kişide opioid kullanım bozukluğu keşfedilmiştir. Bunlardan yaklaşık 1,7 milyonu ise reçeteli olarak ağrı kesici kullanmıştır. 2017 yılında Amerikan Birleşik Devleti hastalık kontrolü ve önlenmesi merkezinin yayınladığı rapora göre, 2006-2015 yılları arasında ABD’de reçete edilen opioid miktarı dramatik şekilde artmıştır. 2010 yılında ise zirveye ulaşmıştır. Bu yılda kişi başına 782 mg equvalant morfin (MME) reçete edilmiştir. Bu yıldan sonrazamanla azalma göstermiştir. 2015 yılında ise 640 MME olmuştur. Ayrıca 2006-2010 yılları arasında her 100 kişide reçete edilme oranı 72.4’ten 81.2 ye yükselmiştir. Sonrasında ise 2010-2015 yılları arasında 100 kişide 70.6’ya düşmüştür. Bütün bu düşüslere rağmen 1999 yılı ile kıyaslandığında opioidlerin reçete edilme sayısı 3 kat daha fazladır. Bu sebepler yüzünden bilim dünyası kronik ve akut ağrı tedavisi için alternatif yöntemler aramaya başlamışlardır (Schuchat ve ark. 2017).

Türkiye’de de bağımlılıkla ilgili ciddi önleme ve tedavi çalışmaları mevcuttur. 2019 yılında alkol ve nikotin bağımlılığı dışında tedavi merkezlerine yapılan başvuru sayısı 270.006’dır. Bu sayı 2017 yılında 211.126 iken 2018 yılında 251.593’tür. Yıllar geçtikçe tedavi için başvuran birey sayısında ciddi artışlar meydana gelmektedir. Bu başvuru yapan bireylerin %38’5’i ilk kez tedavi için başvurmuştur. %60’ı ise önceden tedavi görmüş ve tekrar tedavi için başvuran bireyleri kapsamaktadır. 2020 yılında Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü’nün yayınladığı rapora göre alkol ve nikotin bağımlılığı verileri dışlandığında ayakta başvuru ve yatarak tedavi gören birey sayısı en çok opioid bağımlılığı gösteren bireylerde çıkmıştır. 270.006 kişi arasında 150.536 kişi opioid bağımlılığından kurtulmak için ayakta tedavi birimlerine başvurmuştur. Bu sayılar opioid bağımlılığının ülkemizde geldiği durumu açıkça ortaya koymaktadır. 2019 yılında tedavi gören hastaların hangi madde türünü kullandığını açıklayan veriler

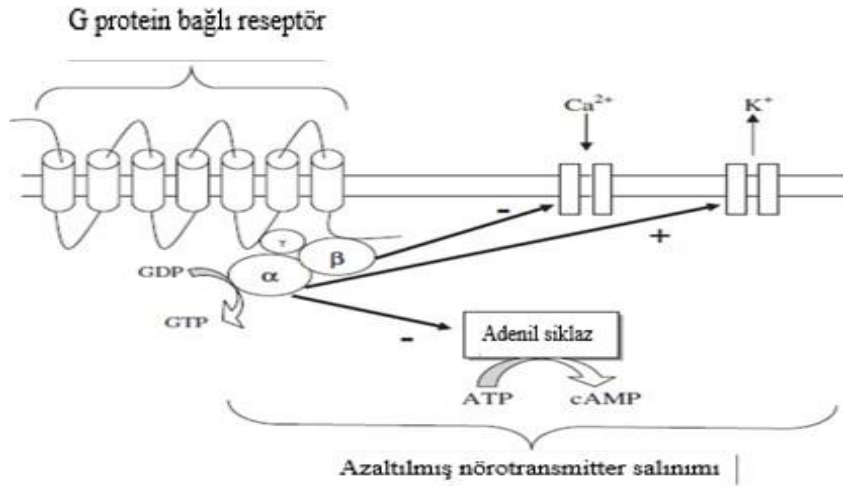
incelendiğinde %64,3'ünü opioidler oluşturmaktadır (Sağlık Bakanlığı Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü, 2020).

Yıllara göre madde kullanımını ile ilişkili ölüm verilerine bakıldığında 2017 yılında 941 kişi, 2018 yılında 657 kişi, 2019 yılında ise 342 kişi vefat etmiştir. Yıllara göre ölüm sayısında ciddi bir azalış vardır. 2018 ila 2019 yılları arasında azalış oranı %47,9'dur. Opioid kullanımına bağlı ölümlerin sayısına bakıldığında 2017 yılında 32, 2018 yılında 36 ve 2019 yılında ise 21 kişidir (Türkiye Uyuşturucu Raporu 2021).

2020 yılı Avrupa Uyuşturucu Raporuna göre 2018 yılında yetişkinler arasında opioid kullanım yaygınlığı Avrupa Birliği nüfusunun %0,4'ünü oluşturmaktadır. Bu oran ise yaklaşık 1,3 milyon insana denk gelmektedir. Avrupa Birliği sınırları içinde eroin ve diğer opioidlerin üretimi ve yakalanan miktarında artış yaşansa da kullanan birey bakımından azalış gözlemlenmiştir. Endişe verici verilerden biri ise 2009 yılından başlayarak 2019 yılının sonuna kadar 57 yeni opioid türü tespit edilmiştir. Sadece 2019 yılında 8 yeni opioid rapor edilmiştir. Opioid kullanım bozukluğu ile ilgili ülkeler arasındaki farklara bakacak olursak 1000 kişi başına veri de İrlanda 6.1- 7, Danimarka 4-9.6, İtalya 6.5-7.2 ve Birleşik Krallık 8.3-8.7 oranlarıyla başı çekmektedir. 2011 yılında Türkiye'de ise bu oran 1000 kişide 0,2-0,5'tir (Avrupa Uyuşturucu Raporu 2020).

Opioid maddeler, ağrıyı ve stresi kontrol etmek ve ödül ceza merkezini ve ruh halini düzenlemek için G protein bağlı reseptör (GPCR) ailesine ait olan ve normalde endorfinler, enkefalinler ve dinorfinler dahil olmak üzere endojen opioid peptitler tarafından aktive edilen opioid reseptörlerini uyarır. Bu G protein bağlı reseptör ailesine ait olan opioid reseptörler üç farklı genden alan 3 farklı reseptör içerir. Bunlar; μ (MOR), δ (DOR) ve κ (KOR). Üç opioid reseptörü, duygu durum ve ağrının farklı yönleri için ümit verici ilaç hedefleri iken, μ reseptörleri, güçlü analjeziyi indüklemek için morfin gibi opioidler tarafından aktive edilebilen tek reseptördür. Ağrı tedavisi için halihazırda reçete edilen μ reseptör agonistleri arasında morfin, oksikodon ve fentanil bulunmaktadır. Bu μ reseptör hedefli opioidler klinik olarak mevcut en güçlü analjezikler olmasına rağmen, aynı zamanda oldukça bağımlılık yaparlar (Ehrlich ve ark. 2019).

Reseptörlerin isimleri buldukları anatomik bölgeden ya da farmakolojik açıdan etkili olan bileşenlerin isimlerinden gelmektedir: Morphine (μ), ketocyclazocine (κ) vas deferens (δ)



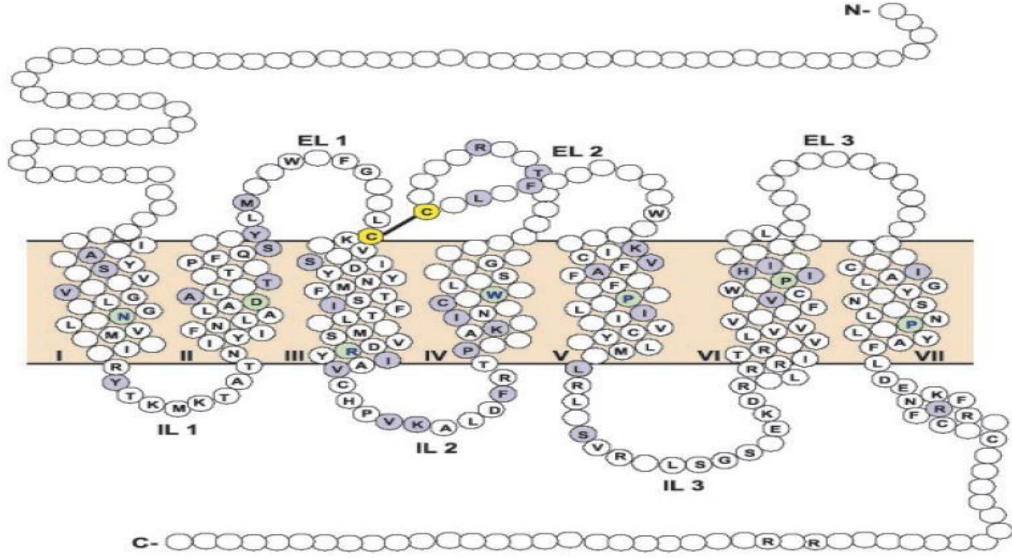
Şekil 2.7. Opioid G-Protein Bağlı Reseptör Yapısı.

Opioid reseptörlerinde olduğu gibi G protein bağlı reseptörler efektör proteine direkt bir etki yapmazlar. Mesaj veya uyarı ikincil haberci denilen G protein aracılığı ile iletilir. Bütün opioid reseptörler G protein ile bağlı bir şekilde dururlar. İnhibisyon altındadırlar. Örneğin μ opioid reseptörünün aktivasyonu şu şekilde olur; morphin etkisi ile voltaj bağımlı kalsiyum kanalları kapanır. Potasyum iyonlarının dışarı çıkışı uyarılır ve hücre hiperpolarize duruma geçer ve adenil siklaz inhibisyonu sayesinde cAMP miktarı azalır. Böylece nöronal hücre uyarılabilirliği azaltılır ve sinirsel uyarıların bir hücreden diğerine geçişi engellenir. Ayrıca sinir hücreleri vasıtasıyla salgılanan nörotransmitter salınımı inhibe olur (McDonald ve ark. 2005).

2.4.1. Opioid reseptörler

Opioid reseptörleri hem merkezi hem de periferik sinir sisteminde (PSS) bulunur. Opioid reseptörlerinin sinir sisteminde lokalizasyonuna ilişkin ilk veriler 1973'te ortaya çıkmıştır. Günümüzde opioid reseptör alt tiplerinin aşağıdakilerle ilgili alanlarda yer aldığı bilinmektedir: 1) talamus, rostroventral medulla, periaquaduktal gri alan (PAG), pons gibi ağrı iletimi alanlarında veya omuriliğin dorsal boynuzunda; 2) nukleus akumbens, ventral tegmental alan veya korteks gibi ödül merkezinde; 3) hipotalamus, amigdala, ventral pallidum, globus pallidus, rafe çekirdeğinde, hipokampus ve olfaktor bulbus gibi diğer beyin alanlarında. Ayrıca periferik dokularda, gastrointestinal ve solunum yollarında bulunmaktadırlar (Listos ve ark. 2019).

Opioid reseptörleri hücre dışında bir N-terminal bölgesi, üç hücre dışı ve üç hücre içi trans membran sarmal ile bağlanan ve son olarak da dördüncü hücre içi sarmal bölgesini oluşturan C-terminal kuyruk ile Gi/Go proteinine bağlı reseptörlerin A sınıfı (Rhodopsin) ailesine aittir. Şekil 2.8.'de görüldüğü gibi her bir trans membran yapısı Romen rakamlarıyla gösterilmiştir. Beyaz içi boş daireler MOP, DOP ve KOP arasında aynı olmayan amino asitleri göstermektedir. Yine beyaz olan ama içi harflerle dolu olan daireler ise bu üç reseptörlerin kendi içinde aynı olan amino asitleri göstermektedir. Yeşil daireler A reseptör ailesine ait olan özdeşliği, mor daireler ise diğer benzerlikleri gösterir. Sarı daireler ise muhtemel bir disülfid bağı oluşturan amino asitleri göstermektedir. Böylece opioid reseptörler neredeyse %60 oranında benzerdir. Trans membran halkalarında büyük oranda bir benzerlik içerirler, N ve C terminal bölgelere doğru daha özgün, daha farklı bir yapı ile karşılaşılır (Waldhoer ve ark. 2004).



Şekil 2.8. Opioid Reseptörlerinin Yapısı (Waldhoer ve ark. 2004).

Endojen ve eksojen ligandlar tarafından opioid reseptör aktivasyonu, analjezi, solunum depresyonu, öfori, beslenme, hormonların salınımı, gastrointestinal geçişin inhibisyonu ve anksiyete üzerindeki etkileri içeren çok sayıda etki ile sonuçlanır. Genel olarak, MOP veya DOP reseptörleri için agonistler analjezik ve ödüllendiriciyken, KOP-R agonistleri disforiktir. Morfin ve diğer opioidler, kronik ağrı tedavisi için tercih edilen analjezikler olmaya devam etmektedir. Bununla birlikte, uzun süreli kullanımlarındaki en büyük sınırlama, uzun süreli ilaç uygulaması sırasında çoğu hastada gözlemlenen analjezik etkilerde derin bir azalma olan fizyolojik toleransın gelişmesidir. Toleransa ek olarak, bazı hastalarda opioid yoksunluğu semptomlarının gelişmesini önlemek için artan dozlarda ilacın sürekli uygulanması gerekliliği ile

sonuçlanan fizyolojik bağımlılık ortaya çıkabilir. Bu nedenlerle, bu karmaşık fizyolojik olayların altında yatan mekanizmaları belirlemek için hayvan tolerans, bağımlılık ve bağımlılık modelleri geliştirilmiştir.

Bir endojen (endomorfın molekülü) veya eksojen (morfin molekülü) ligandın bir opioid reseptörü ile bağlanması, bir Go veya Gi proteininin aktivasyonuna ve ardından G proteinine bağlı reseptör kinazlar (GRK) olarak adlandırılan bir protein kinaz ailesi tarafından fosforilasyona yol açar. Bu etki beta-arrestin bağlanması dahil olmak üzere hücre içinde moleküler değişikliklere neden olur. G proteinleri 3 alt birimden oluşur: α , β ve γ . Ligand reseptöre bağlandığı zaman GTP α alt birimine tutunurken α -GTP kompleksi $\beta\gamma$ alt ünitesinden ayrılır ve böylece opioid reseptörünü aktif hale getirirler. Her iki kompleks hücre içi sinyal iletiminde görev alırlar. Böylece adenil siklaz aktivitesi ve cAMP düzeyi azalır. Ayrıca protein kinaz A aktivitesi baskılanır. α -GTP kompleksi ayrıca fosfolipaz C (PLC) ve mitojenle etkileşen protein kinaz yolunu aktive eder. PLC fosfotidil inozitol 4,5 bifosfatı (PIP₂) inozitol 1,4,5 trifosfat (IP₃) ve diaçilgliserole (DAG) hidrolize eder. IP₃ endoplazmik retikulumdan kalsiyum salınmasını artırır. Potasyum kanalının aktivasyonu ise hücrenin hiperpolarizasyonunu artırır ve doğrudan olmasa da hücrenin uyarılabilirliğini azaltır. $\beta\gamma$ dimer kompleksi ise doğrudan kalsiyum kanalını (P/Q tipi, N-tipi ve L tipi) bloke eder. Bu durum hücrede kalsiyum konsantrasyonu azalır ve nörotransmitterlerin baskılanmasına neden olur. Opioid reseptörlerinin uyarılmasının potasyum ve kalsiyum kanallarının aktivitesi üzerindeki etkisi, çeşitli beyin bölgelerinde tekrar tekrar doğrulanmıştır ve bu mekanizma, opioid reseptörünün uyarılması için anahtar bir etki olarak kabul edilmiştir. Morfine kronik maruz kalma, opioid reseptörlerinin GRK'ler tarafından fosforilasyonunu indükler. Bu fosforilasyon, opioid reseptörlerini arrestin bağlanması için hazırlar. Arrestin bağlanması, daha fazla G protein aracılı sinyali bloke eder, böylece opioid reseptörlerinin desensitizasyonunu indükler (Listos ve ark. 2019).

2.4.1.1. μ reseptörü (Mu, MOP)

μ reseptörü ilk keşfedilen opioid reseptörüdür. Öforiyi tetikler ve ödül merkezini uyarda önemli bir rol oynamaktadır (Wang 2019). μ reseptörü, merkezi sinir sistemi boyunca, örneğin serebral korteks, amigdala gibi bu duyuların entegrasyonu ve algılanması ile ilgili bölgeler dahil olmak üzere duyu ve motor işlevle ilgili alanlarda bulunur. Bu reseptör alt tipi opioid bağımlılığında kritik bir rol oynamaktadır (McDonald ve ark. 2005).

μ reseptörleri en çok kaudat putamende bulunur. μ reseptörleri, glutamat salımını ve dolayısıyla C ve A delta liflerinden nosiseptif uyarıların iletimini inhibe ettikleri omuriliğin dorsal boynuzundaki temel afferent nöronlar üzerinde presinaptik olarak konumlanır. PAG nosiseptif ağrının iletiminin merkezi kontrolünde yer alan bir orta beyin alanıdır. PAG'dan çıkan efferent lifler, afferent liflerde nosiseptif iletimi inhibe etmek üzere hareket ettiği omuriliğe iner, bu yol, azalan inhibitör kontrol yolu olarak bilinir. PAG'da yüksek μ reseptörü yoğunlukları bulunur ve bazı opioidlerin analjezinin, beyin bu bölgesindeki bir inhibitör γ -amino butirik asit (GABA) tonusunun çıkarılmasından kaynaklandığı ileri sürülmektedir. GABA, beyindeki ana inhibitör vericidir ve PAG'dan antinosiseptif çıkışı azaltmak veya önlemek için hareket eder (McDonald ve ark., 2005). μ agonistleri ile ilişkili başlıca yan etkiler, merkezi ve periferal kemoreseptörlerin hiperkapniye duyarlılığında azalma yoluyla solunum depresyonunu içerir. μ reseptör agonistleri ayrıca gastrointestinal sistem sekresyonlarını ve peristaltizmi inhibe ederek sıklıkla kabızlığa neden olur. μ reseptörüne bağlanan opioidlerin ayrıca kardiyovasküler sistem, termoregülasyon, hormon salgılanması ve bağışıklık fonksiyonu üzerinde etkileri vardır. Bağırsaklarda bulunan μ reseptörleri gastrointestinal boşaltma ve sekresyondan sorumludur. μ reseptör agonistleri gastrik boşalmayı inhibe eder, pilorik kas tonusunu artırır, ince ve kalın bağırsaktan geçişi geciktirir. Tüm bu etkiler kabızlığa sebep olur. Morfin ve diğer opioid ilaçların en belirgin yan etkisi budur (McDonald ve ark. 2005; Listos ve ark. 2019).

2.4.1.2. δ reseptörü (Delta, DOP)

Diğer opioid reseptörlerine göre daha az yaygın olarak dağılmıştır. En yüksek yoğunlukta olfaktor bulbus, serebral korteks, nükleus akumbens ve kaudat putamende bulunur. δ reseptörleri, nörotansmitter salınımını engellemek için primer afferentler üzerinde presinaptik olarak yer alırlar. Bu reseptörler hem spinal hem de supraspinal bölgeler aracılığıyla bazı opioidlerin analjezik etkilerine katılırlar. Bununla birlikte δ reseptör agonistlerinin gastrointestinal sistem motilitesini azalttığı ve solunum depresyonuna neden olduğu belirlenmiştir. Yapılan bazı δ reseptörü olmayan fare deneylerinde; aşırı lokomotor aktivite gözlemlenmiş ve bazı koşullarda bu reseptörün lokomotor aktiviteyi azaltabileceği gözlemlenmiştir. Ayrıca yine bu farelerde anksiyete ve depresyon benzeri davranışlar gözlemlenmiş ve δ reseptörü aracılığı ile ruh halini düzenlemenin mümkün olabileceği düşünülmüştür (Akil ve ark. 1998; McDonald ve ark. 2005).

2.4.1.3. κ reseptörü (Kappa, KOP)

Opioid reseptör ailesinin bir diğer üyesi ise kappa ya da KOP diye adlandırılan reseptörlerdir. Hipotalamus, periaduktal gri alanda yaygın şekilde bulunurlar. Dinorfin kappa reseptörüne bağlanarak disforik ve ağrı kesici etki oluşturur (Wang 2019).

Tablo 2.1. Opioid Reseptör Alt Tipleri, MSS’de Buldukları Yerler, Etkileri ve Spesifik Etkileri (Wang 2019).

Opioid reseptörler	MSS’deki yerleri	Etkileri	Spesifik etkileri
Mu	Serebral korteks, talamus, periakuduktal gri alan ve rostral ventromedial medulla.	Analjezi, öfori, konstipasyon, respiratör depresyon, fiziksel bağımlılık	Ödül pekiştirmesi (Hedonik ve teşvik edici)
Kappa	Hipotalamus, periakuduktal gri alan.	Analjezi, disfori, diürez.	Ödüllendirici etkinin tersi etki
Delta	Basal gangliyon (pontine nukleus, amigdala).	Analjezi, anksiyolizis.	

2.4.2. Endojen ve Eksojen Ligandlar

Endojen opioid peptitler 4 adet hormon öncüsü molekülden sentezlenmektedirler. Bu öncü moleküller pro-enkalin, proopiomelanocortin, prodinorfin, pre-pro-N/OFQ (Przewłocki ve Przewłocka 2001).

Endojen DOP reseptör peptidleri met-enkephalin ve leu-enkephalin proenkephalinden türemiştir. KOP agonisti olan dinorfin A ve B prodinorfinden türemiştir. Beta- endorfin ise tüm üç opioid reseptörlerinin agonistidir (Przewłocki ve Przewłocka 2001).

Yapıları morfine hiç benzemeyen sentetik opioid agonistlerinden fentanil ve remifentanil daha güçlü bileşiklerdir. Pentazosin ve buprenorfin kısmi agonistlerdir. Kısmi agonistler azaltılmış etkinliği sayesinde aynı reseptöre etki ederken morfin gibitam bir agonistin etkinliğini azaltabilir. Bu kısmi agonistlerin etkisinden dolayı tam agonistlerin etkisini eski haline getirmek için gereken tam agonist dozunda bir artış gerekebilir (Przewłocki ve Przewłocka 2001).

Bazı opioid ligandları, opioid reseptörünün belirli bir alt tipi için özgünlükten yoksundur. Örneğin, endojen peptid olan beta-endorfin üç opioid peptide karşıda aynı şekilde agonist etki gösterir. Buprenorfin ise μ ve nosiseptin (NOP) reseptörlerine karşı

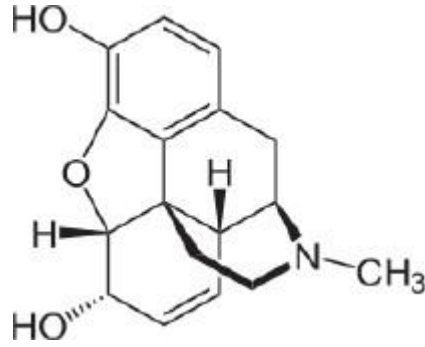
kısmi agonist aktivite gösterir. Diğer bazı opioid ilaçları, farklı opioid reseptörlerinde karışık etkilere sahiptir. Örneğin pentazosin, μ reseptörlerinde bir antagonist olarak, ancak delta ve kappa reseptörlerinde kısmi bir agonist olarak davranır (Przewlocki ve Przewlocka 2001).

Tablo 2.2. Endojen Opioidler, Sentetik ve Yarı Sentetik Opioid Agonistleri ve Antagonistleri ve Opioid Alt Tiplerine Göre Gösterdikleri Affinite.

Endojen Ligandlar			
	MOP	KOP	DOP
B-endorfin	✓✓✓	✓✓✓	✓✓✓
Endomorfın 1/2	✓✓✓	X	X
Leu-enkefalin	✓	X	✓✓✓
Met-enkefalin	✓✓	X	✓✓✓
Dinorfın A/B	✓✓	✓✓✓	✓
N/O/FQ	X	X	X
Klinik ilaçlar			
Agonistler			
Morfın	✓✓✓	✓	✓
meperidin	✓✓✓	✓	✓
Diamorfın(eroin?)	✓✓✓	✓	✓
Fentanil/remifentanil	✓✓✓	✓	X
Antagonist			
Nalokson	✓✓✓	✓✓	✓✓

2.4.3. Morfin

Morfin, haşhaş bitkisinden (*Papaver somniferum*) elde edilen doğal bir alkaloiddir. Haşhaş bitkisi binlerce yıldır hayatın içindedir. Ağrı kesici veya keyif verici madde olarak kullanımı geçmişten bugüne yaygındır. Morfin sözcüğü Yunan Mitolojisi'nden gelmektedir. Bu mitolojide uyku tanrısı olarak bilinen Morpheus adından türemiştir. Orta ile şiddetli ağrıyı tedavi etmek için kullanılan en yaygın opioiddir. Morfin asidik koşullarda suda yüksek oranda çözünen ve fizyolojik pH'ta lipidlerde zayıf çözünen zayıf bir bazdır (Sverrisdóttir ve ark. 2015). Morfinin son zamanlarda medikal amaçlı kullanımı azalsa da en güçlü analjezik ve ağrı kesici ajandır (Bhatt ve ark. 2015). Morfin μ reseptör agonistidir ve morfinin tüm etkisi bu reseptör üzerinden gerçekleşir. Morfin ayrıca κ ve δ reseptörlerine de zayıf affinite gösterir ve bu reseptörler üzerinden de çeşitli etkiler gösterir. Oral morfin uygulamasında neredeyse %100'ü gastrointestinal yol tarafından emilir (Christrup, 1997; Sverrisdóttir ve ark. 2015).



Şekil 2.9. Morfinin Yapısal Formülü (Listos ve ark. 2019).

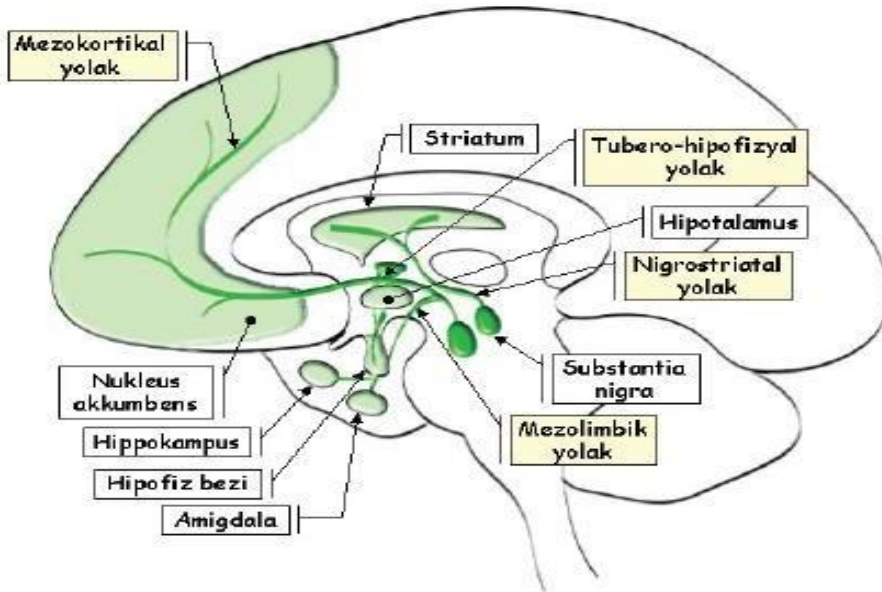
Solunum yolunda opioid reseptörlerinin varlığı, morfinin önemli klinik belirtileri ile ilişkilidir. Morfin, öksürük kesici ilaç olarak, ayrıca solunum sistemi içinde ameliyattan sonra ve akciğer kanserine bağlı ağrıların kontrolünde kullanılır. Tersine, aşırı dozda morfin, morfin tedavisinde önemli bir sınırlayıcı faktör olan yüksek solunum depresyonu riskini indükler.

2.4.3.1. Opioid Bağımlılığı ve Yoksunluk Sendromu

Opioid bağımlılığı bir toplum sağlığı sorunudur. Madde bağımlılığı olarak da bilinen bu durum bireyin ilaca ya da maddeye erişimi engellendiğinde bağımlı olunan maddeyi arama ve alma isteğinde artış, alım limitinde kontrolü kaybetme ve negatif duygu durumlarının ortaya çıkmasıyla karakterize oldukça ciddi kronik olarak tekrarlayan bir bozukluktur (Koob 2008).

Ruhsal Bozuklukların Tanısal ve İstatistiksel El Kitabına (DSM-5) göre, madde bağımlılığı bozuklukları, tolerans gelişimi, yoksunluk, kontrolsüz artan alım ve bir madde için özlem dahil olmak üzere bir semptomlar topluluğu olarak tanımlanır (Koob 2008).

İnsanlar kaygılı oldukları, hayal kırıklığına uğradıkları veya gergin, sinirli oldukları dönemde bu durumların geçmesi ve kendilerini iyi hissetmek için bağımlılık yapıcı maddeleri kullanmaktadırlar. Çünkü bu maddelerin kaygı giderici ve kendisini iyi hissettirici özellikleri vardır. Bunun nedeni ise bağımlılık yapıcı maddelerin beynin ödül merkezini uyarmasıdır. Bir kez kullandıktan kişinin fiziksel ve psikolojik durumuna göre birey de bu tür maddelere karşı tekrar bir istek oluşmaya başlar. Bu duruma psikolojik bağımlılık denir. Maddeye karşı adeta bir özlem duyma başlar. Birey maddeyi kullanmaya devam ettikçe başlangıçtaki keyif verici ve iyi hissettirici özelliklerine karşı bir tolerans gelişmeye başlar ve kullanılan doz veya madde türü yetmemeye başlar. Birey kendini iyi hissedemez. Bu durumda birey daha yüksek dozda madde kullanmaya başlar. Bu duruma ise fiziksel veya fizyolojik bağımlılık denilmektedir. Fiziksel bağımlılığın en önemli göstergesi kullanılan maddenin kesildikten sonra bireyde yoksunluk sendromunun görülmesidir. Artık madde ruhsal olarak iyi olma durumu için kullanılmaktan ziyade maddenin ani kesilmesiyle meydana gelen yoksunluk belirtilerini engellemek için kullanılmaktadır ve böylece birey kısır bir döngüye girer (Uzby 2009).



Şekil 2.10. Beynin Madde Bağımlılığı ile İlgili Yolakları (Uzby 2009)

Ventral tegmental alan, hipokampus, olfaktör bulbus ve nükleus akumbensi birbirine bağlayan ve ödül merkezi üzerinde önemli rolü olan bir yolak vardır. Bu yolak ventral ön beyin ile ventral orta beyni birbirine bağlar ve çoğunlukla miyelinli sinir liflerinden oluşur. Ayrıca VTA'da bulunan A10 grubu sinir hücrelerinden çıkan sinir lifleri nükleus akumbens, olfaktör bulbus, kaudat putamen ve frontal kortekse projeksiyon yapar. Bu liflerin oluşturduğu yolak ise mezokortikal ve mezolimbik dopaminerjik adı verilir. Bu iki yolak birlikte mezokortikolimbik yolak adı ile de anılmaktadır. Bütün bu anatomik yapılar alkol sigara, opioid gibi tüm bağımlılık yapıcı maddelerin ödüllendirici etkisinden maruz kalırlar. Bağımlılığa sebep olan maddeler çeşitli nörobiyolojik ve nörokimyasal sistemle ilişki içindedir (Uzbay 2009). Bunların içinde en önemlisi mezokortikolimbik sistemdeki dopaminerjik sistemdir. Özellikle opioid bağımlılığında dopaminin rolü net bir şekilde ortaya konmuştur (Stolerman 1992).

Madde bağımlılığını anlayabilmek için beyin anladıklarını nasıl davranışa dönüştürüyor bunu anlamak elzemdir. Mezolimbik dopamin sistemi anlama aracılık etmede ya da daha spesifik olarak, hedef odaklı davranışı teşvik etmek için uyarıların belirgin olmasında büyük rol oynar. Bu belirginlik beynin ödüllendirici, caydırıcı ve yeni uyarıların sınıflamasına izin verir ve madde araması ya da sakınması motivasyonu konusunda bireyleri etkiler. Bu yollardaki dopamin aktivasyonunun büyüklüğü ve zaman sürecinin, belirli bir uyarı hakkında kodlanmış bilgi tipini etkileyebileceği gösterilmiştir. Dopamin aktivitesindeki hızlı ve büyük artışlar ödül merkezi uyarılarına cevap olarak meydana gelirken, yavaş aktivite ise caydırıcı uyarılara cevap olarak meydana gelir (Volkow ve Li 2004).

Kötüye kullanılan ilaçların farklı etki mekanizmaları ve sinirsel hedefleri olsa da pekiştirici etkilerinin ortak bir unsuru, dopamin ödül yolları üzerindeki etkileridir. Kötüye kullanılan tüm ilaçların mezolimbik dopamin sistemini aktive ettiği gösterilmiştir. Bu kötüye kullanılan maddelerin bu yolda doğal ödüllere göre 5 ila 10 kat daha fazla dopamin saldığı ve salıverilme süresinin daha uzun olduğu ve bununda onları daha belirgin hale getirdiğı gösterilmiştir (Koob ve Volkow 2010).

Dopaminerjik sistemde dopamin reseptörleri ile ödül merkezi arasında sıkı bir bağ vardır. Özellikle dopaminerjik D2 reseptörü (DDR2) bu sistemde çok büyük bir yer kaplamaktadır. Yapılan birçok çalışmada DDR2 reseptörü eksikliğinin etkisine

bakılmıştır ve sonuç olarak ödüllendirmeye karşı duyarlılıkta büyük bir azalma görülmüştür (Blum ve ark. 2000; Comings ve ark. 2000).

GABAerjik sistemde özellikle alkol ve sedatif ilaçlara karşı oluşan bağımlılıkta önemli bir rolü olduğu belirtilmiştir. GABA santral sinir sisteminde en çok bulunan inhibitör nörotransmitterdir ve sinir hücresinde hücre içine Cl girişini artırır. Böylece hücre içi daha negatif olur ve postsinaptik olarak inhibisyona neden olur. GABA'nın bu etkileri barbitüratlar ve alkol tarafından kullanılmaktadır. Bu maddeler böylece anksiyete giderici etkiye sahiptirler (Uzbay 2009).

Morfin bağımlılığının önemli bir unsuru, bağımlılık geliştikçe beyindeki ödül sisteminin nasıl değiştiğidir. Kötüye kullanılan ilaçların pozitif pekiştirici etkilerinin nörobiyolojisi üzerine yapılan araştırmanın temel noktası, mezokortikolimbik-dopamin sisteminin kökenleri ve terminal alanları olmuştur. Opioidler ve en sık bağımlılık meydana getiren türü olan morfin, orta beyin yüksek yoğunluklu μ -opiod reseptörlerine sahip tipik bir parçası olan ventral tegmental alanda dopamin salınımının GABAerjik inhibisyonunu inhibe ederek dopamin salınımına neden olur. Dopaminin aşırı uyarılması, beyindeki doğal ödül yollarının (duyarlılık ve tolerans) ve öğrenme süreçlerinin daha düzensiz olmasına neden olur (Uhl ve ark. 2017).

2.4.4. Nalokson

Nalokson, uzun süredir klinikte kullanılan, seçici olmayan, kısa etkili bir opiod reseptör antagonistidir ve şu anda geniş bir doz aralığında güvenli bir ilaç olarak kabul edilmektedir. Opioidlerin aşırı kullanımından kaynaklı solunum güçlüklerinde tedavi amaçlı kullanılmaktadır. Opioid bağımlı kişilerde opiodlerden ani yoksunluk veya μ -opiod reseptör antagonistlerinin uygulanması opiod yoksunluk sendromuna yol açmaktadır. Bu sendromun belirti ve semptomları arasında olumsuz ruh halleri, sinirlilik, kas ve karın ağrıları, gastrointestinal şikayetler (bulantı, ishal), terleme, lakrimasyon, halsizlik ve uykusuzluk yer alır. Semptomlar genellikle kısa etkili bir opiodin son dozundan 6-12 saat sonra ve metadon gibi uzun etkili bir opiodin son dozundan 36- 48 saat sonra başlar. Sendromun süresi değişkendir. Bazı çalışmalar 7-14 günden fazla olmayan bir süre bildirirken, diğerleri birkaç haftadan birkaç aya kadar süren daha uzun süreli yoksunluk sendromunu da tanımlamaktadır. Sendrom yaşamı tehdit etmesede, birçok hasta tedavinin bu ilk aşamasını tamamlamada zorluk yaşar (Dorp ve ark. 2007).

Nalokson ve naltrekson gibi opioid antagonistleri, μ -opioid reseptörünü bloke ederek opioid etkilerini tersine çevirir ve önler. μ -opioid reseptör blokajı, opioid bağımlı bireylerde akut yoksunluk semptomlarının ortaya çıkmasına neden olur. μ -Opioid-reseptör antagonistleri, bağımlılıktan yoksunluğa geçişi kolaylaştırmak için hızlı ve aşırı hızlı detoksifikasyonda yaygın olarak kullanılmaktadır. Opioid antagonistleri tarafından μ -opioid reseptörü işgali, uygulanan opioidlerin etkinliğinin azalmasına neden olduğundan, antagonistler yeniden bağımlılığın gelişmesini önlemek için de kullanılabilir. Bu durum, eroinin pekiştirici etkilerini ve potansiyel olarak opioid kullanımı ile koşullu uyaranlar arasındaki ilişkiyi azaltır (Connor ve ark. 2000).

Naloksonun en yaygın kullanımı opioid aşırı doz kullanımından sonradır. Bağımlı bireyler tarafından kullanılan opioidlerin yarılanma ömrü daha uzunken naloksonun yarılanma ömrü yaklaşık 30 dakikadır. Bu yüzden opioidlerin neden olduğu solunum güçlükleri naloksonun etkisi geçtikten sonra geri dönebilir (Dorp ve ark. 2007).

Tablo 2.3. Opioid Bağımlı Bireylerde Nalokson Kullanımı ve Yan Etkileri (Dorp ve ark. 2007).

Nalokson kullanımı	Yan etkisi
Aşırı opioide maruz kalma	Akut yoksunluk sendromu
Detoksifikasyon	Solunum güçlüğü'nün nüksetmesi
Koruma(bakım) dönemi	Kardiak aritmi, pulmoner ödem

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Projenin deneysel aşamaları Necmettin Erbakan Üniversitesi Deneysel Tıp Uygulama ve Araştırma Merkezi (KONÜDAM) Laboratuvarı'nda ve Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı Kas Laboratuvarı'nda gerçekleştirilmiştir. Deney hayvanları KONÜDAM'dan temin edilmiştir. Çalışmamız Necmettin Erbakan Üniversitesi KONÜDAM Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Merkezi Hayvan Deneyle Yere Etik Kurulu'nun 2021-045 no'lu kararı ile onaylanmış olup Necmettin Erbakan Üniversitesi BAP birimi tarafından 211318004 no'lu proje ile desteklenmiştir.

3.1. Deneyin Dizaynı

Deneysel morfin bağımlılığı oluşturmak için 10 mg/kg morfin subkutan yolla günde bir defa olmak üzere 7 gün boyunca uygulanmıştır. Morfin bağımlılığının geliştiğini saptamak için tek doz “ μ opioid antagonisti” olarak nalokson periton içi yolla uygulanmıştır. Morfin yoksunluğu oluşmasına neden olan nalokson uygulanmasından hemen sonraki süreçte hayvanların davranış özellikleri izlenip kaydedilerek morfin çekilmesi olarak da adlandırılan morfin yoksunluk bulguları skorlanmıştır. Morfin çekilmesinin belirgin davranış bulguları oluşturması, uygulanan bağımlılık yönteminin etkin olduğunun göstergesi olarak kabul edilmektedir. Projede bu bilgiler ışığında morfin bağımlılığı modeli oluşturulmuştur.

Projede öngörülen deneysel aşamalar Necmettin Erbakan Üniversitesi Deneysel Tıp Uygulama ve Araştırma Merkezi (KONÜDAM) ve Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı Kas Laboratuvarı'nda gerçekleştirilmiştir. Araştırma için erişkin (300-350 gram ağırlığında) Wistar Albino cinsi erkek sıçan kullanılmış olup her grupta 8 adet hayvan bulunacak şekilde düzenlenmiş ve dağılımları rastgele belirlenmiştir. Deney süresince hayvanlar yiyeceklerine ve suya *ad libitum* erişime sahip olmuş ve kontrollü koşullar altında sabit sıcaklık ($21\pm 2^\circ\text{C}$) ve 12 saat gece/12 saat gündüz (ışık açılışı 07.00) ortamda tutulmuştur.

3.2. İzole Organ Banyosu Sistemi

İzole organ banyosu sistemi organ banyosu, termostatlı dolaşım pompası, amplifikatör, kayıt ünitesi ve O_2 - CO_2 karışım tüpünden oluşmaktadır. Organ banyosu hazneleri çift çeperli yapıya ve dört adet hazneye sahiptir. Aynı anda 4 dokuda çalışma

imkânı vermektedir. Organ banyosu haznelerinin dış çeperlerinde termosirkülâtörde ısıtılmış distile su dolaşmaktadır. Bu sistem sayesinde haznenin içindeki dokunun fizyolojik sıcaklık değerinde ölçümleri yapılmaktadır. Sıcaklık (37°C) sabit tutulur. Haznelerin içine krebs solüsyonu konulur. Ardından kesilen dokulardan 5 mm'lik kesitler elde edilip bir ucu haznenin üst kısmında olan bir ucu da haznenin içinde olan çengellere ipek iplik vasıtasıyla asılır ve uygun gerim ayarlanarak doku kesitinin hazne içinde durması sağlanır. Ardından güç çeviricilerden aldığı elektriksel sinyali kayıt cihazına aktaran amplifikatör vasıtasıyla gerim frekansları gözlemlenir.



Resim 3.1. İzole Organ Banyosu Sistemi

Özellikle fizyolojik çalışmalarda sıklıkla kullanılan izole organ banyosu sistemi cerrahi olarak çıkarılmış ve izole edilmiş organların sisteme uygun kesitler alınarak gözlemlenmesi esasına dayanır.

İzole organ banyosunda kullanılan dokular kalp, kan damarları, bağırsak, uterus ve mesane dokuları gibi kas lifleri içeren organlardır (Kenakin 2001; Montgomery 2016; Patedl 2019). Ayrıca izole organ banyosunda testis kapsülünün kullanıldığı deneyler de mevcuttur (Davis 1969; Mclean 1973).

3.2.1. Krebs Solüsyonunun hazırlanması

Krebs solüsyonu deney hayvanlarından elde edilen doku kesitlerinin in vitro ortamda da kasılabilme özelliklerini göstermesini sağlayabilmesi açısından önemlidir. İçeriği (NaCl: 119 mM, KCl: 4,7 mM, MgSO₄: 1,5 mM, KH₂PO₄: 1,2 mM, CaCl₂: 2,5 mM, NaHCO₃: 25 mM, Glukoz: 11 mM) itibariyle in vivo ortamdaki fizyolojik

koşulları sağlar. Deneyleer için günlük olarak hazırlanıp hem yıkama prosedürleri sırasında hem de kasılma parametrelerini gözlemlerken kullanılmaktadır.

3.3. Morfin Bağımlılığının Oluşturulması ve Bağımlılık Skorunun Değerlendirilmesi

1. grup (Kontrol grubu, n=8, K grubu): Sıçanlara 7 gün, subkutan yolla günde bir defa serum fizyolojik, (SF, %0,9 NaCl izotonik) (10 mg/kg) uygulanmıştır. Ayrıca 7. günün sabahında 3 ml/kg SF intraperitoneal yolla enjekte edilerek hayvanlar davranış yönünden izlenmiştir.

2. grup (Morfin bağımlılığı grubu n=8, M grubu): Sıçanlara 10 mg/kg morfin subkutan yolla günde bir defa 7 gün uygulanmıştır. Ayrıca 7. günün sabahında 3 ml/kg serum fizyolojik intraperitoneal yolla enjekte edilerek sıçanlar davranış yönünden izlenmiştir.

3. grup (Morfin bağımlılığı + morfin çekilmesi grubu, n=8, MN grubu): Sıçanlara 7 gün, 10 mg/kg morfin subkutan yolla günde bir defa uygulanmıştır. 7. günün sabahında bağımlılığın geliştiğini saptamak için 3 ml/kg mü opioid antagonisti nalokson intraperitoneal yolla enjekte edilmiştir.

Her üç gruptaki hayvanlar nalokson ve SF enjeksiyonlarından bir buçuk saat önce ve enjeksiyonlardan yarım saat sonra tartılarak ve vücut ağırlık değişim oranları belirlenmiştir.

Enjeksiyonlardan hemen sonra 25 cm çapta ve 65 cm yükseklikteki pleksiglas şeffaf silindir gözlem kafeslerine konularak ve video kayıt sisteminde kaydedilmiştir. Enjeksiyondan sonraki otuz dakika boyunca hayvanlara hangi enjeksiyonların yapıldığını bilmeyen bir araştırmacı tarafından aşağıdaki tabloda belirtilen morfin yoksunluk davranış ve belirtileri el ile skorlanmıştır.

Hayvanlar video kayıt sisteminden de takip edilerek manuel olarak kaydedilen bulgular doğrulanmıştır. Her hayvan için sonuçta morfin çekilme skoru belirlenerek ve nalokson almayan hayvanlarla karşılaştırılmıştır. Bu deneysel dizayn birçok araştırmada kullanılmış ve aynı doz uygulamalarda morfin bağımlılığının geliştiği nalokson uygulamasıyla belirlenmiştir (Rahman 2002; Almela 2012; Pintér-Kübler 2013).

Morfin yoksunluk skorunun belirlenmesi ise gözlem ve el ile yapılmıştır. Gözlemlenen deney hayvanlarının Geller-Holtzman skalasına göre gösterdikleri davranışlar kaydedilmiş olup skorlaması yapılmıştır. Deney esnasında kullanılan her

hayvan için bu skala kullanılmıştır. Ardından tek yönlü varyans testiyle istatistiksel analizi yapılmıştır.

Tablo 3.1. Geller-Holtzman Skalası

Davranış veya bulgu	Skor	Davranış veya bulgu	Skor
Her bir %1'lik vücut ağırlık kaybı	1	Yuvarlanma hareketi	2
Kaçma girişimi 2-4	1	Belirgin salya	7
Kaçma girişimi 5-9	2	Sıçrama	2
Kaçma girişimi 10'dan çok	3	Şahlanma	1
Islak köpek silkelmesi 1-2 defa	2	Süslenme	1
Islak köpek silkelmesi 3-4 defa	4	Gözlerini kısma	1
Her bir defekasyon (Diyare)	2	Tıksırma sayısı	1
Diş çıtırdatma	2	Anormal postür	3

Bu üç deney grubundaki tüm hayvanların testislerinin alınması işlemi sabah 10:00-11:00 arasında gerçekleştirilmiştir. Hayvanlara ketamin (60mg/kg)- ksilazin (6mg/kg) anestezisi altında servikal dislokasyon uygulanmıştır. Servikal dislokasyondan sonra testisler hızlı bir şekilde alınmış ve Krebs solüsyonu içerisine aktarılmıştır. Testislerden yabancı doku ve kan artıkları temizlendikten sonra, testis kapsül halinde bir ucu kısa ve diğer ucu yaklaşık 10 cm uzunluğunda bir ipe bağlanarak transvers düzlemde izole organ banyosundaki kancalara asılmıştır. Sıcaklığı 37°C olan ve sürekli gazlandırılan (%95 O₂ ve %5 CO₂) içinde krebs solüsyonu olan izole organ banyosundaki hazneye yerleştirilmiştir. Gerimi 1 g olarak ayarlanmıştır. Testis kapsülünün izometrik gerim değişiklikleri dört kanaldaki güç değiştirici ile kaydedilmiştir. Dokular asıldıktan sonra 15 dakikalık periyodlarla 1 saat yıkanarak anestezik ajanların etkisinin azalması beklenmiştir. Bu bir saatlik periyodun sonunda 10⁻³M adrenalin uygulanmış olup ardından 15'er dakikalık aralıklarla sonuçlar kaydedilmiştir. Kontraksiyonlar frekans ve gerim olarak izole organ banyosu sisteminde kayıt altına alınmıştır.

3.3. Bulguların İstatistiksel Analizi

Testis kapsülünün kasılma gerimleri ve yoksunluk skorlaması sonuçları değerlendirilmiştir. Yoksunluk skorlamasındaki veriler için ortalama ve standart sapma değerleri tablo halinde verilmiştir. Gerim değerlerinin gruplar arasında, zaman içinde ve kendi içindeki değişimlerini belirlemek için bir karma etki modeli kullanılmıştır. Analizler SAS University Edition 9.4 programı kullanılarak yapılmıştır. p<0.05 anlamlı kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

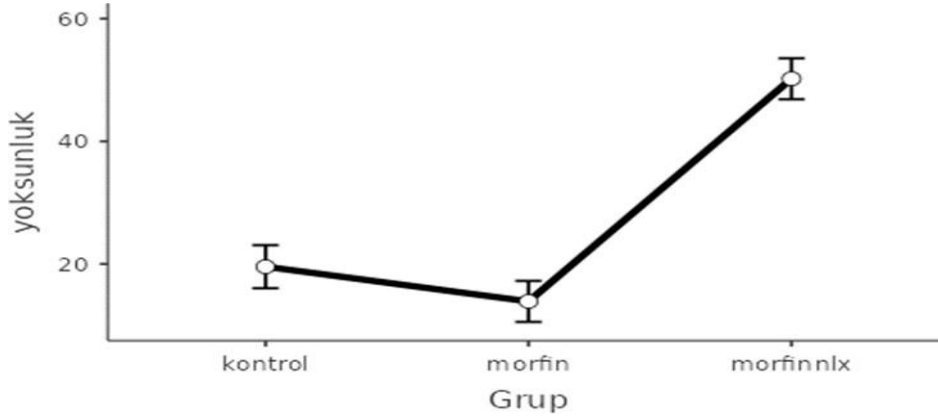
4.1. Yoksunluk Sendromu Bulguları

Gellert-Holtzman yoksunluk ölçeği skorlamasına göre yapılan yoksunluk bulguları, ortalama değerleri ve standart sapmaları Tablo 4.1.'de verilmiştir.

Tablo 4.1. Yoksunluk sendromu bulguları ortalama değerleri (\pm standart sapma).

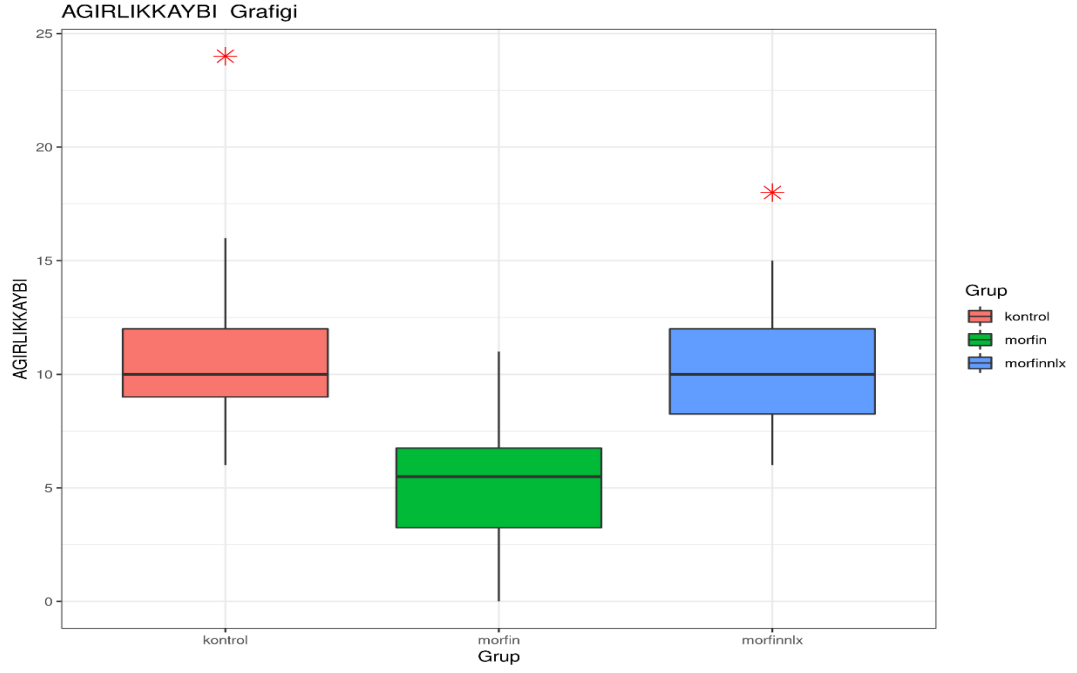
	Kontrol	Morfin	Morfin+Nalokson
Ağırlık	368,88 \pm 90,71	364,8 \pm 43,18	308,9 \pm 30,69
Ağırlık Kaybı(g)	11,77 \pm 5,35	5,2 \pm 3,15	10,7 \pm 3,68
Kaçma Girişimi	7,88 \pm 5,03	7,9 \pm 4,45	5,5 \pm 2,17
Silkelenme	0 \pm 0	0 \pm 0	1,7 \pm 1,15
defekasyon	1,5 \pm 1,5	0,9 \pm 0,99	5,7 \pm 1,49
Diş Çıtırdatma	0,66 \pm 1	0,3 \pm 0,48	4,9 \pm 2,02
Yuvarlanma	0 \pm 0	0,1 \pm 0,31	0,3 \pm 0,48
Salya	0 \pm 0	0 \pm 0	0,7 \pm 0,82
Şahlanma	2,55 \pm 1,23	2,5 \pm 1,84	0,2 \pm 0,63
Süslenme	4,1 \pm 1,76	2 \pm 1,33	3,8 \pm 2,39
Göz kısıma	2,11 \pm 1,53	0,8 \pm 1,135	5,7 \pm 2
Tıksırma	0,77 \pm 1,3	0 \pm 0	0,6 \pm 1,07
Anormal Postür	0,33 \pm 0,5	0,9 \pm 0,87	2,5 \pm 0,84
Genital Bakın	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0
Yoksunluk Skoru	19,55 \pm 3,16	13,9 \pm 4,93	50,2 \pm 6,54

Yoksunluk skoru ortalamasına baktığımızda K grubu 19,55, M grubu 13,9 ve MN grubu 50,2 olarak bulunmuştur (Tablo 4.1.).



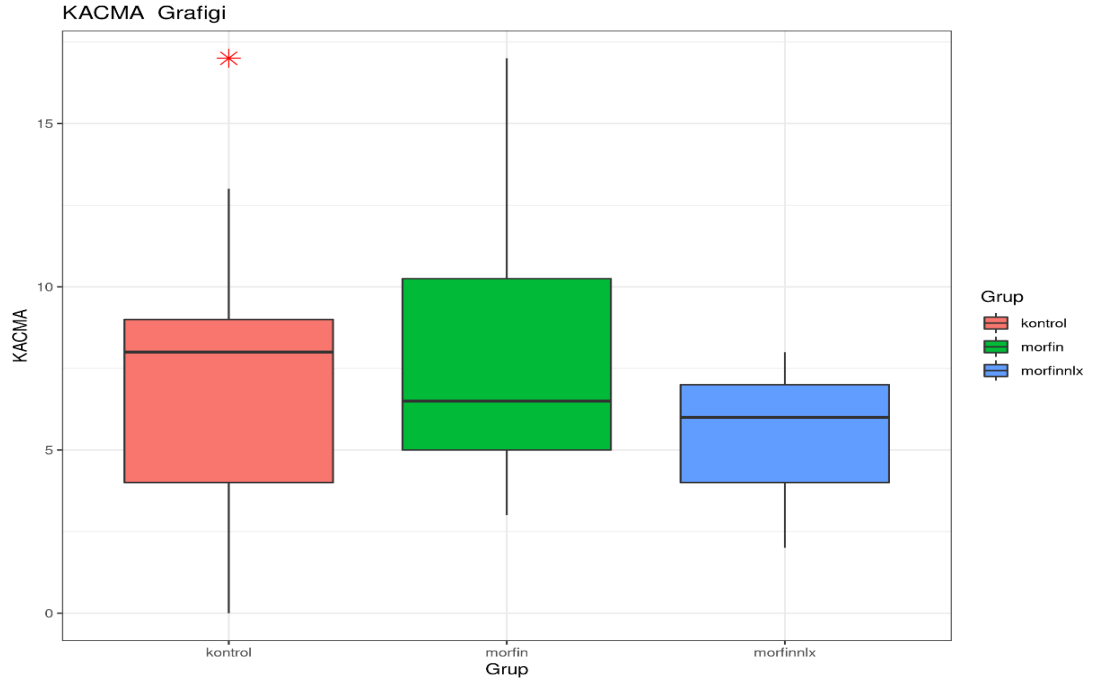
Resim 4.1. Grupların Yoksunluk Skorlamasının Çizgi Grafiğinde Gösterimi.

Grupların yoksunluk skorlaması analizine bakıldığında anlamlı fark bulunmuştur. Yani yoksunluk gruplarda farklıdır. MN grubunda K ve M grubuna göre anlamlı fark bulunmuştur ($p < 0,01$). K ve M gruplarının karşılaştırılmasına bakıldığında anlamlı fark bulunmamıştır ($p > 0,05$).



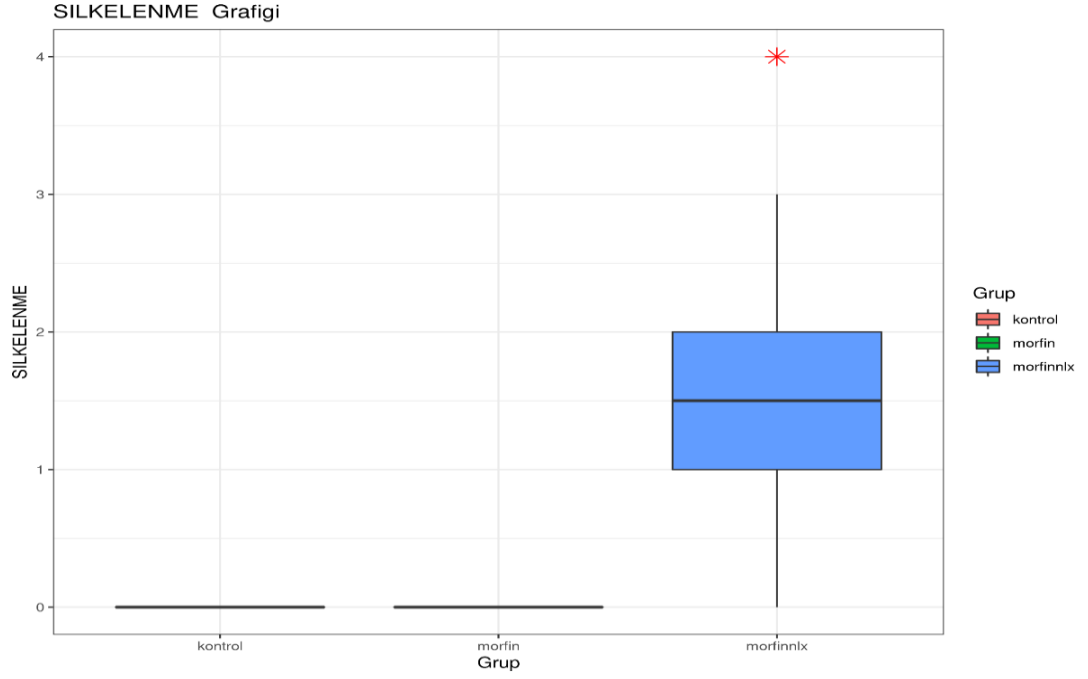
Resim 4.2. Gruplara göre ağırlık kaybı dağılımı kutu-çizgi grafiği gösterimi.

Ağırlık kaybı analizinin sonucunda gruplar arasında anlamlı bir fark bulunmuştur ($p=0,003$). K grubunun M grubu ile karşılaştırılmasında anlamlı fark bulunmuştur ($p=0,005$). Ayrıca K grubunun MN grubuna göre karşılaştırılmasında anlamlı fark ortaya çıkmıştır ($p=0,016$).



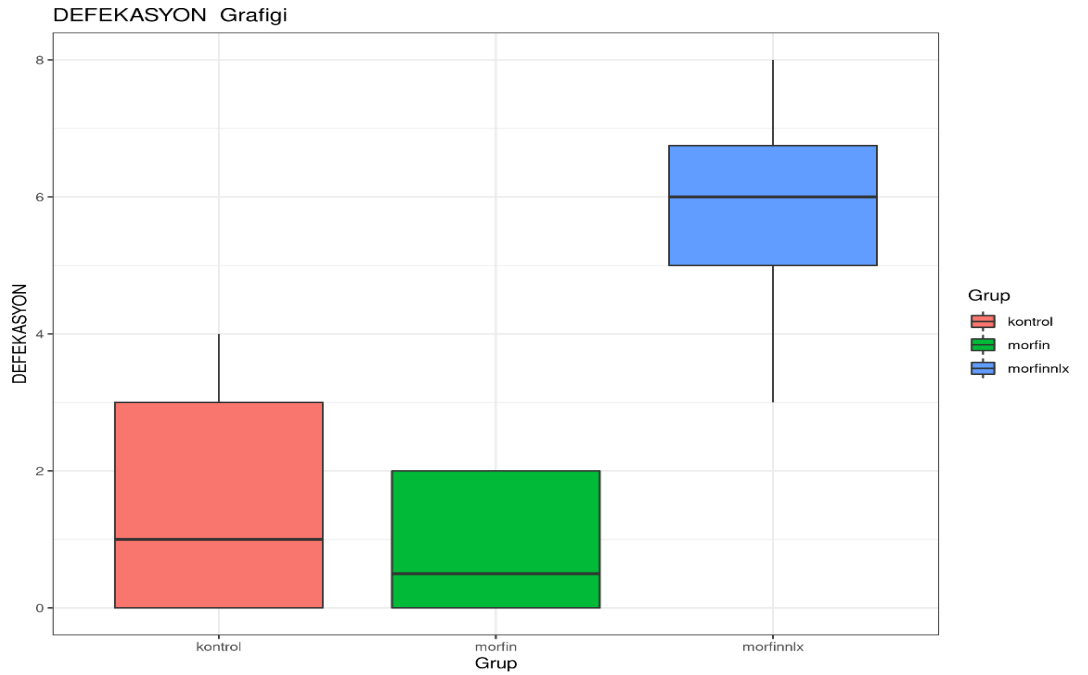
Resim 4.3. Grupların kaçma girişimi.

Kaçma girişiminin istatistiksel analizinde gruplar arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır. Grupların kendi arasındaki kıyaslamada da anlamlı bir fark çıkmamıştır ($p>0,05$).



Resim 4.4. Grupların silkelene sayısı dağılımı

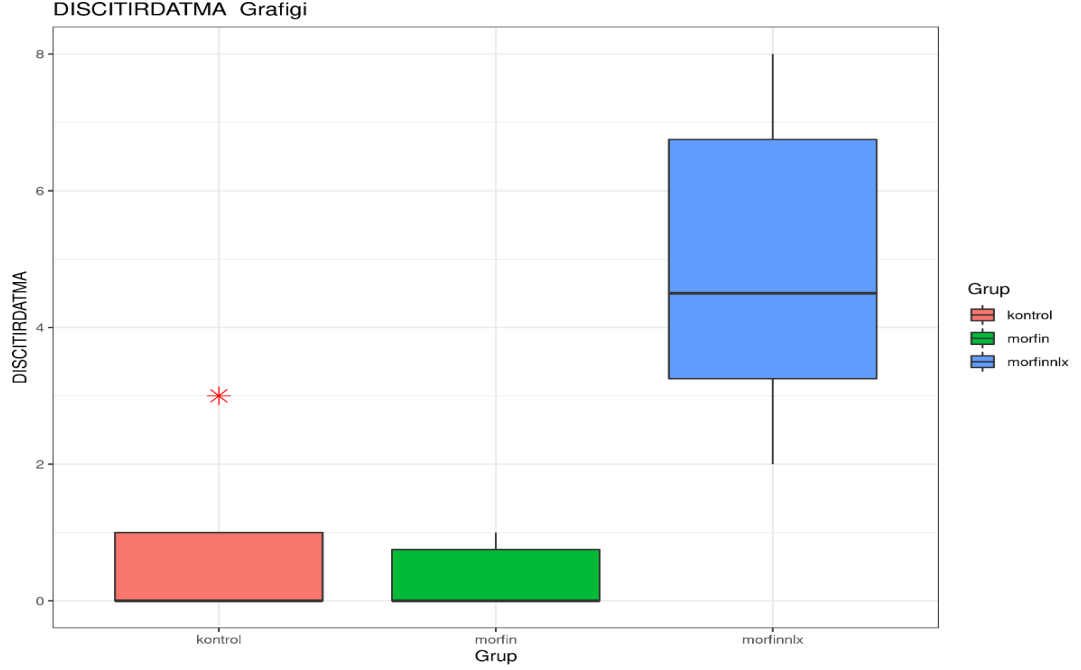
Silkelene sayısının istatistiksel analizine baktığımızda ise gruplar arasında anlamlı bir fark bulunmuştur ($p < 0,001$). K ve M grubunda silkelene davranışı gözlemlenmemiştir.



Resim 4.5. Grupların defekasyon sayılarının dağılımı.

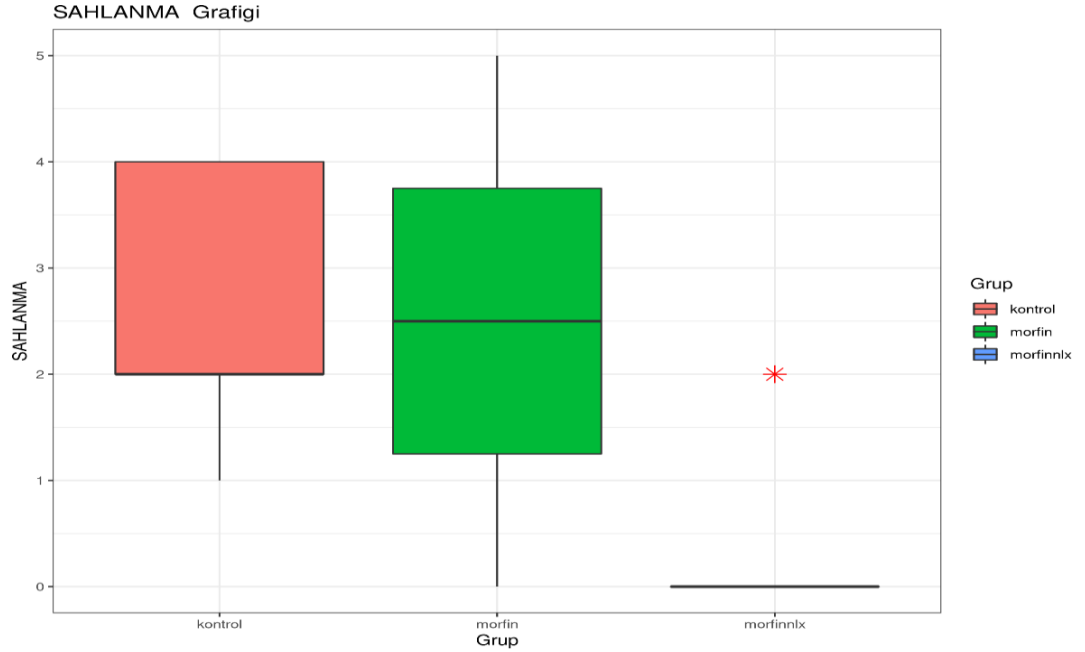
Defekasyon sayısının istatistiksel analiz sonucuna baktığımızda ise gruplar arasında anlamlı fark bulunmuştur ($p < 0,001$). MN grubu defekasyon sayısı

K ve M grubundaki defekasyon sayısı ile karşılaştırılmasında anlamlı fark bulunmuştur ($p<0,001$; Resim 4.5.).



Resim 4.6. Grupların dış çitirdatma sayılarının çizgi-kutu grafiği ile gösterimi.

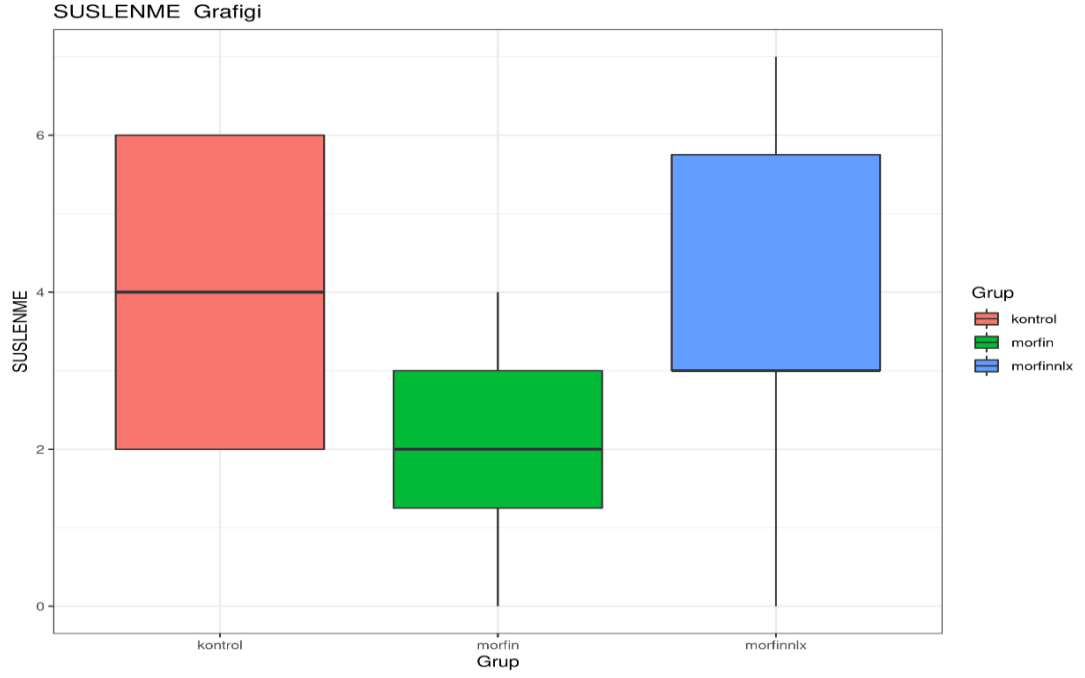
Dış çitirdatma sayılarının gruplara göre istatistiksel analizinde anlamlı fark bulunmuştur ($p<0,001$). Ayrıca MN grubunun diğer gruplarla karşılaştırılmasında anlamlı fark saptanmıştır ($p<0,001$).



Resim 4.7. Gruplarda şahlanma sayısı dağılımı.

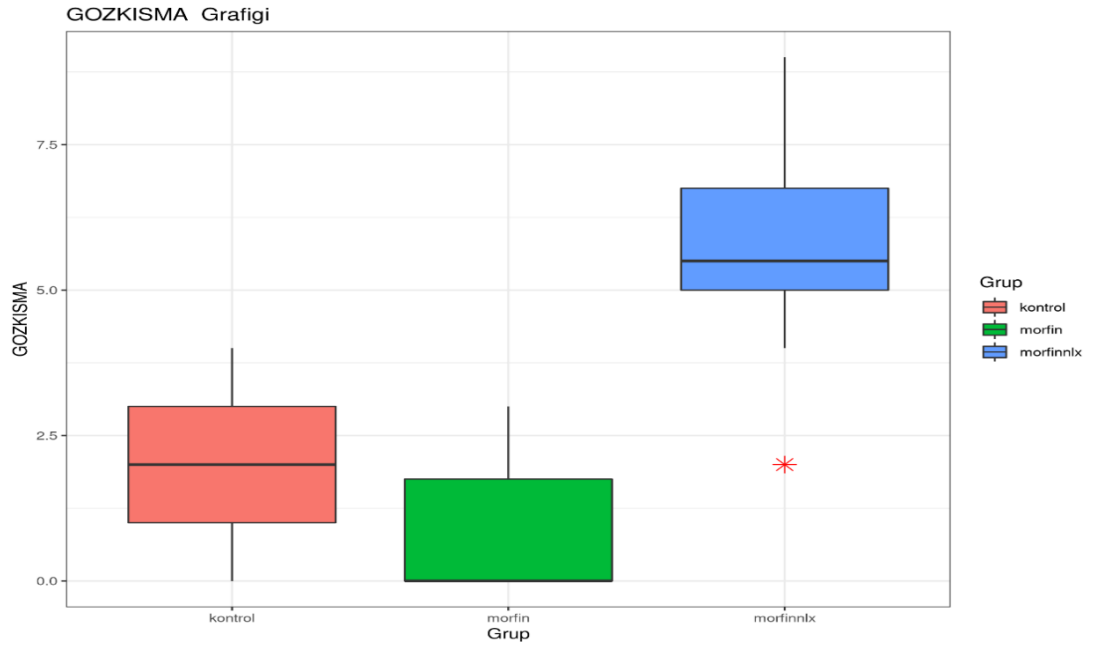
Şahlanma sayılarının gruplara göre analizine bakıldığında istatistiksel sonuç anlamlı çıkmıştır ($p<0,05$). MN grubunda şahlanma gözlemlenmemiştir.

MN grubu ile K ve M grubunun ayrı ayrı kıyaslanmasında ise anlamlı sonuç elde edilmiştir ($p=0,009$; Resim 4.7.).



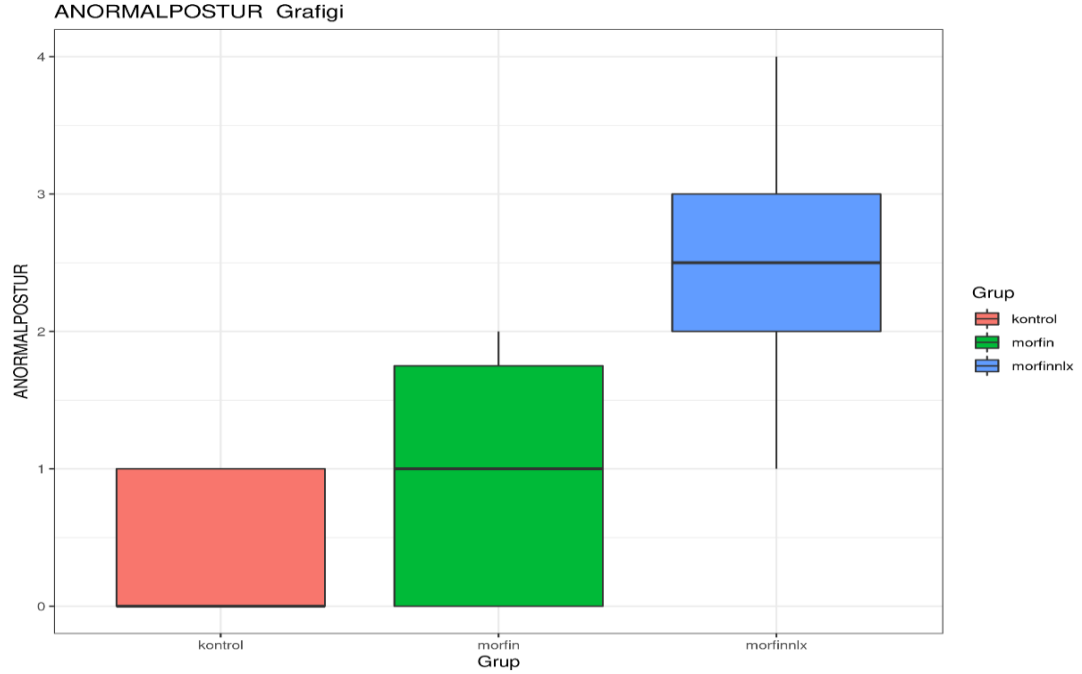
Resim 4.8. Grupların Süslenme Sayısı Dağılımı.

Grupların süslenme sayılarının istatistiksel analizine göre gruplar arasında anlamlı fark bulunmuştur ($p=0,020$). Ayrıca grupların kendi arasındaki karşılaştırılmasında M grubu ile MN grubu ve K ve M grubu arasında istatistiksel olarak anlamlılık bulunmuştur ($p=0,048$; Resim 4.8.).



Resim 4.9. Grupların göz kısma sayısı dağılımı.

Göz kısma sayılarının gruplar arasındaki istatistiksel analizi sonucunda anlamlı fark bulunmuştur. MN grubu ile K ve M grubu kıyaslanmasında da anlamlı fark bulunmuştur ($p<0,001$; Resim 4.9.). Ayrıca K ve M grubunun kıyaslamasında anlamlı farklılık bulunmuştur ($p=0,031$).



Resim 4.10. Anormal postür sayısının kutu-çizgi grafiğinde gösterimi.

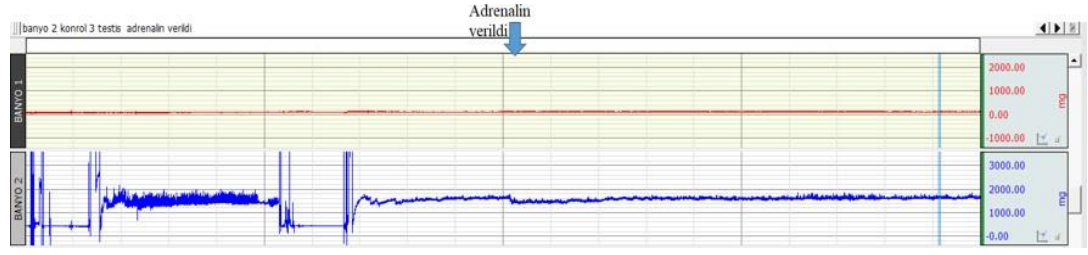
Anormal postür sayısının gruplara göre istatistiksel analizine bakıldığında anlamlı bir fark bulunmuştur ($p<0,001$). MN grubu ile diğer grupların karşılaştırmasında da anlamlı bir fark çıkmıştır ($p<0,05$; Resim 4.10.).

Genital bakım davranışı hiçbir ratta gözlemlenmemiştir. Ayrıca salya ve yuvarlanma davranışı gözle gözlemlenmesine rağmen istatistiksel açıdan anlamlı bir fark meydana gelmemiştir ($p>0,05$).

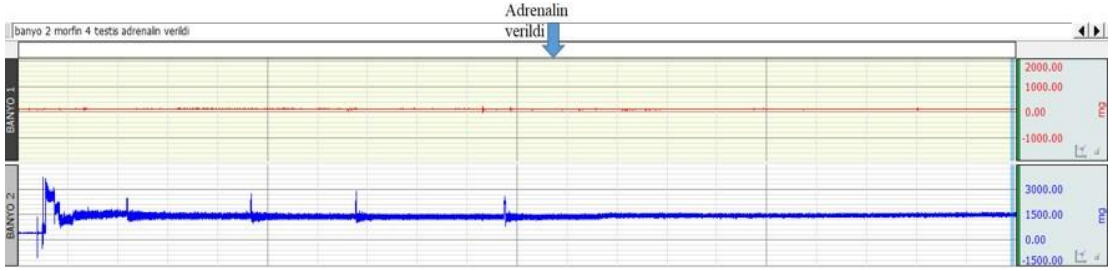
4.2. İzole Organ Banyosu Bulguları

Deney hayvanları bağımlılık geliştirme prosedürleri ve bağımlılık skorlaması yapıldıktan sonra ketamin-ksilazin uygulanması ardından dekapite edilmiştir. Testisler çıkarıldıktan sonra testis kapsülünden şeritler kesilip izole organ banyosuna asılmıştır. İlk 60 dakika boyunca yıkama prosedürleri uygulanmış ve uyum periyodundan sonra testis kapsülünün spontan kasılmaları adrenalin ile uyarılmıştır. Adrenalin verilmesinden önceki 15. dakikadaki testis kapsülünün ortalama gerim değeri gerim1, 15 dakika sonraki gerim değeri gerim2, 30 dakika sonraki gerim değeri gerim3 ve 45 dakika sonraki gerim değeri gerim4 olarak kaydedilmiştir.

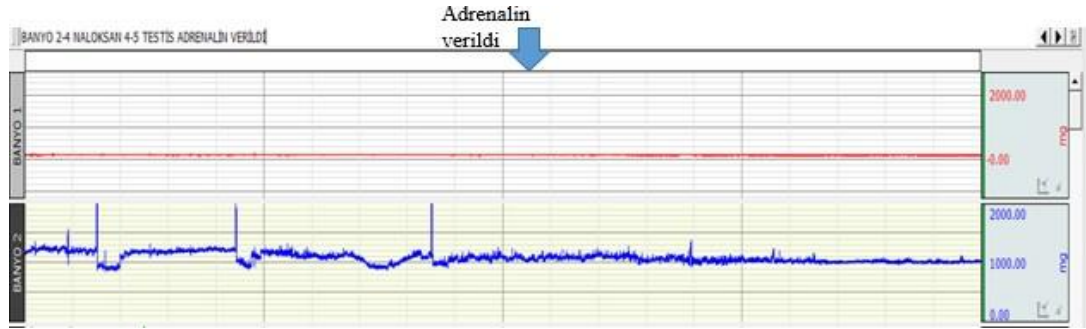
A) Kontrol Grubu



B) Morfin Grubu

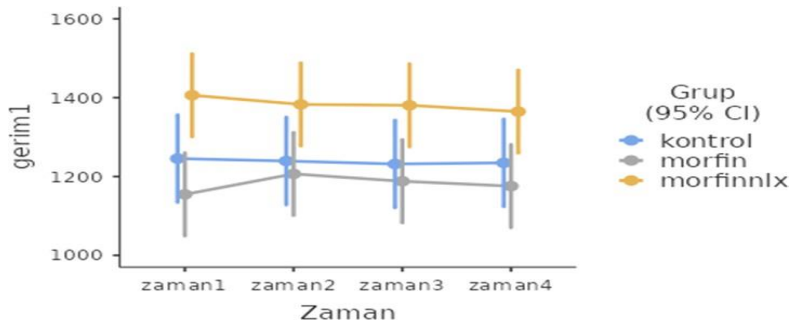


C) Morfin-Nalokson Grubu



Resim 4.11. İzole Organ Banyosunda Gruplara Göre Adrenalin Öncesi ve Sonrası Gerimler.

Resim 4.11.'de testis kapsüllerinin asıldıktan sonra 0-90. dakikalar arasında oluşan görüntüleri her grup için ayrı örnekler verilerek sunulmuştur. Gruplarda adrenalinle indüklendikten sonra kayda değer bir farklılık meydana gelmemiştir ($p>0,05$).



Resim 4.12. İn Vitro Testis Kapsülünün Adrenalin ile İndüklendikten Sonraki Gerimlerinin K, M ve MN Gruplarında Karşılaştırılması.

Adrenalinle indüklendikten sonraki ortalama gerim değerlerinden istatistiksel analiz sonucu elde edilen grafiğe göre; her üç grupta da adrenalin verildikten sonra belirgin bir artış olmamıştır. Adrenalin verilmeden önceki gerim değerlerine bakıldığında MN grubu ve K grubu, M grubuna göre daha yüksek olduğu görülmüştür. Adrenalinle indüklendikten sonra gerim değerinde en fazla azalma M grubunda olmuştur. Diğer iki grupta gerim değerindeki azalma daha düşük olarak meydana gelmiştir

Tablo 4.2. Karma Etki Modeli Analizi, Grup, Zaman ve Grup-Zaman Karşılaştırılması.

	P değeri
Grup	0.020
Zaman	0.733
Grup-Zaman	0.526

İstatistiksel analiz sonucu gerim değerlerinin grup etkisi $p=0,020$, zaman etkisi $p=0,733$ ve grup-zaman etkisi $p=0,526$ olarak bulunmuştur. Elde edilen sonuca göre grup etkisi anlamlı iken ($p<0,05$; Tablo 4.2), zaman ve grup-zaman etkisi anlamlı bulunmamıştır.

Tablo 4.3. Zamanlara Göre Grupların Birbirleriyle Karşılaştırılması.

	Grup	Grup	Adj P
-15. Dk	Kontrol	Morfin	0.235
-15. Dk	Kontrol	Morfin+Nalokson	0.040
+15. Dk	Kontrol	Morfin	0.665
+15. Dk	Kontrol	Morfin+Nalokson	0.065
+30. Dk	Kontrol	Morfin	0.564
+30. Dk	Kontrol	Morfin+Nalokson	0.056
+45. Dk	Kontrol	Morfin	0.438
+45. Dk	Kontrol	Morfin+Nalokson	0.093

K, MN ve M gruplarının adrenalinden önceki '-15. dakika' ve sonraki 15., 30., ve 45., dakikalardaki gerimleri karşılaştırıldığında sadece '-15. dakikadaki' kontrol ve morfin-nalokson grubunda anlamlı farklılık bulunmuştur ($p=0,04$). Ayrıca grupların kendi içindeki zamana göre analizlerinde anlamlı bir fark gözlemlenmemiştir ($p>0,05$; Tablo 4.3).

Tablo 4.4. Testis Kasılmalarının Zamana Göre Gerim Değerleri Ortalamaları (\pm standart sapma).

Kontrol (K)	Zaman1	1245,47 \pm 124,20
	Zaman2	1239,29 \pm 153,7
	Zaman3	1231,71 \pm 159,0
Morfin (M)	Zaman1	1154,62 \pm 141,75
	Zaman2	1206,53 \pm 165,81
	Zaman3	1187,991 \pm 174,73
	Zaman4	1175,58 \pm 191,47
Morfin-nalokson (MN)	Zaman1	1406,16 \pm 149,1
	Zaman2	1382,86 \pm 160,6
	Zaman3	1380,64 \pm 172,85
	Zaman4	1364,62 \pm 183,97

5. TARTIŞMA

Opioid kullanım bozukluğu birçok farklı etkiye sebep olmaktadır. Çoğunlukla MSS'deki etkileri araştırılmıştır. Yapılan birçok çalışmada üreme sistemine ve testis fonksiyonlarına olan etkisi de incelenmiştir. Plazma testosteron, libido kaybı, ejakülasyon hacminde azalma ve sperm hareketinde azalmanın eroin ve metadon ile ilişkili olduğu bulunmuştur (Cicero ve ark. 1975; Mendelson ve ark. 1975).

Bazı çalışmalar, testis kapsülünün motor aktivitesinin, spermelerin seminifer tübüllerden kaput epididime taşınmasında, testis interstisyel basıncının korunmasında ve testis kan akışının kontrolünde rol oynadığını ortaya çıkartmıştır (Setchell ve Breed 2006).

Opioid reseptörleri vücudumuzda birçok yerde bulunmaktadır. Üreme sistemi içerisinde de çok farklı yerde yerleşim gösterirler. Birçok çalışma endojen opioidlerin farklı testiküler hücrelerde bulunduğunu göstermiştir. Buna ek olarak üç tip opioid reseptörünün de sıçan testislerinde varlığı kanıtlanmıştır. Sertoli hücrelerinde, spermatozoada ve leydig hücrelerinde bulunduğunu gösteren birçok çalışma vardır (Cecceralli ve ark. 2006; Babaei ve ark. 2012).

İnsan sperm membranında μ , δ ve κ reseptörlerinin varlığı rapor edilmiştir. Ayrıca spermatojenik hücrelerde μ , δ ve κ opioid reseptörlerinin bulunduğu bildirilmiştir (Estomba ve ark. 2016).

Erkek üreme sistemi verimliliği ise birçok organın oluşturduğu kompleks bir sistemin düzgün bir şekilde çalışması, gonadotropların uygun şekilde salınması ve androjen ve lokal hormonların birlikte çalışmasına bağlıdır. Bu sistemlerin hepsinin uygun bir şekilde çalışması spermatogenez için elzemdir. Morfinin kötüye kullanımının merkezi sinir sistemi ve periferik sinir sistemi mekanizmalarına verdiği zarar iyi bilinmektedir. Cinsiyet hormonları seviyesini, spermatogenezini ve yetişkin sperm sayısını oldukça azaltmaktadır (Fard 2019).

Sağlıklı erkeklerde, opioidler ve agonistleri, pulsatil GnRH salınımı üzerinde çeşitli etkiler vasıtasıyla LH salınımını azaltır. Ek olarak, endojen opioidler, androjenlerin LH üzerindeki negatif geri besleme mekanizmasına karşı koyduğu belirlenmiştir. Yani, 5-alfa dihidrotestosteronun sürekli infüzyonu sırasında, LH salınımı azalır, ancak bir opioid reseptörü antagonisti tarafından etkisiz hale getirilir ve LH salınımı başlangıç seviyelerine döndürülür. Buna karşılık, FSH seviyeleri

opioid infüzyonları ile önemli ölçüde değişmez. Opioidlerin etkisinin puberte evresine bağlı olduğu, yine steroid yapılı cinsiyet hormonları ile opioid sistemi arasındaki ilişkinin altını çizerek gösterilmiştir. Geç ergenlik döneminde naltrekson/nalokson, erkeklerde LH salınım sıklığının artmasına neden olmuştur. Tersine, erken ergenlikte, antagonist uygulandıktan sonra azalmış bir LH salınımı gösterilmiştir (Delitala ve ark. 1983a; Delitala ve ark. 1983b; Mauras ve ark. 1986). Şaşırtıcı bir şekilde metadon, bir opioid olan buprenorfinden daha fazla cinsel işlev bozukluğuna neden olur. Bu sonuçlara göre, buprenorfin ile tedavi edilen bağımlılarda testosteron seviyeleri metadonla karşılaştırıldığında önemli ölçüde olmasa da- daha yüksek bulunmuştur. Bu nedenle steroid yapılı cinsiyet hormonları ve dolayısıyla cinsel işlev, istek ve davranış üzerindeki opioid aracılı etki, hem ağrı tedavisine ihtiyaç duyan kronik opioid kullanıcılarında hem de opioid bağımlılarında görülür (Daniell 2002; Yee ve ark. 2016).

Paroli ve Melchiorri'nin 1961 yılında yaptıkları çalışmada ratlar 2 gruba ayrılarak bir gruba intraperitoneal şekilde kronik morfin uygulanmıştır. Diğer gruba ise serum fizyolojik enjekte edilmiştir. Ardından morfin enjekte edilmiş sıçanların adrenal bezleri ve testislerini incelenmiştir. Morfinin adrenal bezlerde steroid hormonların üretimini inhibe ettiğini gözlemlemişlerdir. Morfinize sıçanlardan alınan adrenal dilimler, uygun koşullar altında in vitro inkübe edildiklerinde, kontrol grubuna göre daha az steroid hormonları üretmiştir. Morfinden sonra ACTH ilaveleri, kontrol grubunda anlamlı bir şekilde hormon üretimine sebep olmamıştır. Normal sıçanlardan alınan adrenal ve testis homojenatlarına in vitro olarak morfin eklendiğinde ise 3 beta-oldehidrojenaz sisteminin bir inhibitörü olarak hareket ettiği görülmüştür (Paroli and Melchiorri 1961).

Endojen opioid peptidler farklı dokularda bulunabildiği gibi erkek üreme sisteminde de bulunmaktadır. Bu yüzden bu opioidlerin üreme fonksiyonlarında önemli bir fonksiyonu olduğu düşünülmektedir. Testosteron salınımını GnRH'ı inhibe ederek testosteron üretimini azaltır. FSH seviyesi için hiçbir opioid karşısında etkili bulunmamıştır (Smeriglio ve Wilcox 1999; Vuong ve ark. 2009). Prospektif deneysel bir çalışmada μ opioid reseptörüne agonisti tramadol uygulanmasının cinsiyet hormonlarına, FSH, LH ve histopatolojik değişimlerine bakılmıştır. Yukardaki çalışmalardan farklı olarak kandaki FSH seviyesi kayda değer bir şekilde azalma göstermiştir. Ayrıca seminifer tübülde dejenerasyon meydana gelmiştir (Abdellatif

ve ark. 2015). Tramadol kullanılan başka bir çalışmada ise uzun dönem tramadol uygulanmasının testis fonksiyonlarına etkisi incelenmiştir. 40 sıçan 2 gruba ayrılıp 8 hafta boyunca bir gruba morfin bir gruba serum fizyolojik uygulanmıştır. Plazma FSH, LH ve testosteron seviyelerinde kayda değer bir azalma meydana gelmiştir. Ayrıca testiküler nitrik oksit (NO) ve lipit peroksidasyonunu arttırmış ve antioksidan emzimlerin aktivitesini azaltmıştır. Sperm sayısında da azalma meydana gelmiştir (Ahmed ve Kurkar 2014).

James ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada erkek ratlar iki gruba ayrılmıştır. Birinci gruptakilere 9 hafta boyunca morfin uygulaması yapılmış, ikinci gruba ise serum fizyolojik enjekte edilmiştir. Bu çalışmada LH ve testosteron konsantrasyonu, testisin ağırlığı ve morfolojisi ve hipofiz bezi, sekonder cinsiyet organları incelenmiştir. İncelemeler 4. haftada, 9. haftada ve doz bittikten sonra 13. haftada yapılmıştır. Morfin uygulaması LH ve testosteron konsantrasyonunu azaltmış ve testis ağırlığında da kayda değer azalmaya sebep olmuştur. Ayrıca morfin uygulanmış testislerde spermatogenezi yöneten spermatojenik hücre popülasyonunda ciddi bir şekilde azalma meydana gelmiştir. Gözlenen tüm etkiler ilacın kesilmesinden sonraki 13 hafta içinde tersine dönmüştür (James ve ark. 1980).

Opioid kullanımının erkek üreme sistemine etkisiyle ilgili yapılan birçok çalışmadan elde edilen sonuçlardan biri ise cinsiyet hormonlarının ve spermatogenezin etkinliğinde önemli bir azalma olduğu ile ilgilidir (Ahmadnia ve ark. 2016; Ajdary ve ark. 2021; Daniell 2002; Takzare ve ark. 2016). Ayrıca 2016 yılında yapılan bir çalışma bu etkilere ek olarak LH seviyesinde anlamlı bir azalma olduğunu, fakat FSH ve testosteron seviyelerinde bir azalma olmadığını göstermiştir. Bu çalışmadan çıkarılan sonuç ise kronik opioid maruziyeti cinsel özelliklerde ve cinsiyet hormonlarında bazı değişiklikleri yaptığı, fakat daha detaylı ve özenli çalışmaların yapılması gerektiğidir (Ahmadnia ve ark. 2016). Sıçanlarda morfin bağımlılığının spermatogeneze etkisini inceleyen bir çalışmada spermlerin gelişim evrelerindeki hücre tipleri olan spermatogonya, spermatosit, spermatit ve spermatozoa evrelerinde anlamlı bir şekilde azalma gözlemlenmiştir. Morfin spermatogenezin aşamalarının neredeyse hepsine etki etmiştir (Takarze ve ark. 2016). LH ve testosteron konsantrasyonunda ciddi azalmanın olduğu başka bir çalışmaya ek olarak üreme ilişkili yollarda mRNA ve protein analizi yapılmıştır. Çıkan sonuca göre ise protein ekspresyonunda ve hedef genlerde azalma meydana gelmiştir (Ajdary ve ark. 2021).

Morfin bağımlılığının ve methadon ile detoksifikasyon işleminin erkek üreme sistemine olan etkisini araştıran bir çalışmada 40 adet yetişkin erkek rat kullanılmıştır. Bunlar 4 gruba ayrılmıştır. İlk grup kontrol grubu olup 30 gün boyunca salin enjekte edilmiştir. Diğer 2 grup günde 10 mg/kg morfin ile başlayıp günde 2 mg/kg olacak şekilde her geçen gün dozu artmıştır. Yoksunluk sendromu bulgularını araştırmak için bu 2 gruptan birine 30 günün ardından 14 gün boyunca methadon uygulanmıştır. 4. gruba ise salin+methadon uygulanmıştır. Seminer vezikül, testis, prostat, LH hormonu, FSH ve testosteron konsantrasyonu incelenmiştir. Çıkan sonuç ise kontrol grubuna göre sadece morfin uygulanan grupta LH, testosteron miktarında anlamlı bir fark bulunmuştur. Yukarıda sözü geçen çalışmalara paralel sonuçlar çıkmıştır. Ayrıca testis ağırlığı, prostat ağırlığı bakımından da anlamlı fark oluşmuştur. Morfin+methadon uygulanan grupta ise kontrol grubuna göre sadece testosteron seviyesindeki azalma anlamlı bulunmuştur (Ghowasi ve Yousofvand 2015). Testosteron seviyesindeki azalış ise erkeklerde yorgunluk, ruh halinde değişkenlik, erektil disfonksiyon ve libidoda azalış ile karakterizedir. Ortaya çıkan bu durum opioid bağımlılarının tedavisinde önemli bir engel oluşturmaktadır (Bawor ve ark. 2015).

Testisin iki temel hücresi olan sertoli ve leydig hücrelerinin her ikisi de lokal opioid sisteminden etkilenir. Spesifik olarak, LH ve kortikotropin salgılatıcı faktörü (CRF), aynı zamanda testiküler testosteron üretiminden esas olarak sorumlu olan hücreler olan leydig hücrelerinden endojen opioid peptitlerin üretimini uyarır. Opioidler, androjen bağlayıcı protein üretimini engelleyerek testosteron seviyelerini dolaylı olarak düzenleyebilir. Endojen opioidler, germ hücrelerinin farklılaşması için yapısal ve metabolik destek sağlayan hücreler olan sertoli hücreleri üzerinde inhibe edici bir etki gösterir (Almela ve ark. 2012; Seeber ve ark. 2019).

Kısacası opioidler erkek üreme fonksiyonlarının düzenlenmesinde hem MSS hem de PSS önemli rol oynarlar. MSS'de GnRH'nın salgılanmasının kontrolünde görev alırlar. Böylece gonadotropinler olan FSH ve LH'nın salınımını da düzenlerler. Spermatogenezi ve testiküler hormon sentezini etkilerler. Endojen opioidler nöromodülatör olarak işlev görerek sinyallerin birçok üreme organı ve dokusuna iletilmesini sağlarlar. Endojen opioidler erkeklerde leydig ve sertoli hücrelerinde etkilerini gösterirler.

İnsanoğlu da dahil olmak üzere çeşitli memelilerin testis kapsüllerinin, mediastinal eksen boyunca kasılabilir olan düz kas hücrelerini içerdiği gösterilmiştir.

Yakın zamanda, sıçan ve tavşanlardan izole edilmiş testis kapsülü preparatlarının, eksojen noradrenalin, adrenalin ve asetilkoline yanıt olarak kasılıp-gevşediği bildirilmiş ve bu kanıtlara dayanarak, testis kapsülünün otonomik olarak innerve olduğu ve fizyolojik olarak önemli olabileceği öne sürülmüştür (Davis and Langford 1969; Mclean and Bell 1972). Bununla birlikte, boğa, maymun ve insanın testis kapsüllerinde belirgin efferent sinir liflerinin mevcut olduğu bildirilmiştir. Sıçan testis kapsülünün izole preparatları, transmural elektrik stimülasyonuna yanıt olarak kasılma gevşeme paterni göstermiştir. Bu kasılma, eksojen noradrenalin tarafından da aynı şekilde gerçekleşmiştir. Çoğu deneyde adrenerjik nöron bloke edici madde olan, bretilyum tarafından, noradrenalinin kendisine verilen yanıt ortadan kaldırılmadan ortadan kaldırmıştır ve amfetamin ile yeniden düzenlenmiştir. Bu sonuçlar testiküler kapsülün adrenerjik motor sinirlerin varlığını kuvvetle göstermektedir. Bu kanıt, noradrenalinin, diğer dokulardaki terminal adrenerjik pleksuslara benzeyen ve kan damarlarıyla ilişkili olmayan ince sinir liflerinin sayısında histokimyasal lokalizasyonu ile doğrulanmıştır (Davis ve Langford 1969; Mclean ve Bell 1972). Sonuç olarak insanlar ve yirticilerdeki testislerin dış yüzeyini saran testis kapsülü tabakasının kasılma özellikleri sempatik sinir sonlanmalarından salınan katekolaminler tarafından düzenlenmektedir. Sıçan testis kapsülünde nöronal ve eksojen noradrenalinin uyarılmış kasılmaya esas olarak α_1 adrenoseptörlerin aracılık ettiğini göstermiştir. (Campos ve ark. 1990; Jurkiewicz ve ark. 2006). Testiküler kapsülün kasılma aktivitesi spermin seminifer tübülden epididimise geçişini sağlamaktadır. Bu yüzden bu kasılma özelliklerindeki bozulma erkek cinsel işlev bozukluğunda önemli bir göstergedir.

Elektriksel alan stimülasyonu ile indüklenen testis kapsülü kasılmalarının, α_1 -adrenoseptörlerin katılımını gösteren prazosin tarafından kısmen önlendiğini bildirilmiştir. Ayrıca, fonksiyonel deneylerde eksojen olarak uygulanan noradrenalin tarafından sadece α_{1A} - ve α_{1B} adrenoseptör alt tipleri aktive edilmiş gibi görünmesine rağmen, sıçan testis kapsülünde α_{1A} -, α_{1B} - ve α_{1D} -adrenoseptör varlığını tanımlanmıştır (Jurkiewicz ve ark. 2006; Da Silva ve ark. 2014). Sıçan testis kapsülü kullanılarak yapılan organ banyosu çalışmaları, nöronal olarak aracılık eden veya eksojen olarak uygulanan noradrenalin kaynaklı sıçan testis kapsülü kasılmalarına α_2 -adrenoseptörlerinin de katıldığını göstermektedir (Da Silva ve ark. 2014). İnsan ve tavşandan alınan testis kapsülü de nöronal uyarıya veya eksojen olarak uygulanan noradrenaline yanıt olarak kasılma paterni göstermektedir (Banks ve ark. 2006).

Noradrenalin ve adrenalin tarafından indüklenen düz kas gevşemesi ise β -reseptör aracılı olarak gerçekleşmektedir.

Testis kapsülünde kasılmayı gerçekleştiren maddelerden biri ise ATP'dir. İmmunohistolojik çalışmalar sonucunda P2X1 ve P2X2 reseptörlerinin sıçan ve insan testiküler kapsülünde bulunduğu ortaya çıkmıştır. (Banks ve ark. 2006). Eksojen olarak uygulanan kolinerjik agonistler olan asetilkolin (ACh), karbakol veya pilokarpin, saptanmış kolinerjik sinir sonları olmamasına rağmen sıçandan, fareden ve tavşandan elde edilen testiküler kapsüllerde kasılmayı indüklemişlerdir. Fakat insan testis kapsülünde kasılma meydana gelmemiştir (Davis and Langford 1969; Banks ve ark. 2006; Da Silva ve ark. 2014). Nikotik ve muskarinik asetilkolin reseptörlerinin antagonistlerin kullanıldığı bazı deneyler, kolinerjik ilaçlar tarafından indüklenen sıçan testis kapsülünün kasılmalarına M₃ muskarinik reseptörlerinin aracılık ettiğini ortaya çıkarmıştır. Sıçan testis kapsülünde bu muskarinik reseptör alt tipinin aktivasyonu, L tipi voltaj kapılı kalsiyum kanalları yoluyla kalsiyum akışına ve hücre içi depolardan (SR ve mitokondri) kalsiyum salınımına yol açar (Da Silva ve ark. 2014).

Schirmer ve arkadaşlarının yaptığı çalışma, kolin asetiltransferaz, kolin taşıyıcıları, veziküler ACh taşıyıcıları, nikotik reseptörler ve ACh'nin rat testis kapsülünde bulunmasına rağmen, sıçan testis parankiminin de kolinerjik innervasyondan yoksun olduğunu ortaya koymuştur. Bu da sıçan testisinde nöronal olmayan bir kolinerjik sistemin varlığına işaret etmektedir. Testis parankiminde üretilen ACh'nin motor aktivitesini modüle etmek için tunika albugineaya yayılabileceği varsayılmaktadır (Schirmer ve ark. 2011).

Araştırmamızın sonucunda morfin enjekte edilen sıçanlarda morfin yoksunluk sendromu bulguları incelenmiş ve istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0,05$). Sıçanlar davranış yönünden incelendiğinde silkelene ve salya davranışı sadece morfin-nalokson grubunda gözlemlenmiştir. Bu davranışlara ek morfin grubu ve morfin-nalokson grubundaki ratlarda uzun süre yatma davranışı gözlemlenmiştir. İzole organ banyosu deneylerinde ise gruplar arasında anlamlı fark bulunmasına rağmen, zaman ve grup zaman değerlerinde anlamlı fark bulunamamıştır ($p > 0,05$). K, MN ve M gruplarının adrenalinden önceki '-15. dakika' ve sonraki 15., 30., ve 45. dakikalardaki gerimleri karşılaştırıldığında sadece '-15. dakikadaki' kontrol ve morfin-nalokson grubunda anlamlı farklılık bulunmuştur ($p < 0,05$). Ayrıca grupların kendi içindeki zamana göre analizlerinde anlamlı bir fark gözlemlenmemiştir. Ayrıca gerim

değeri 45. dakika en fazla azalış gösteren morfin grubudur.

Düz kas kontraksiyonunu belirlemek için yapılan birçok çalışma özellikle ince bağırsak ve vasküler sistem üzerine yoğunlaşmıştır. Özellikle opioid bağımlılığının en çok etkilediği sistemlerden olan mide bağırsak sisteminde çok çeşitli yan etkiler mevcuttur. Karın ağrısı, kusma ve konstipasyon en yaygın görülen yan etkilerdir. Bu gastrointestinal semptomlar, kronik ağrıdan müzdarip hastalara fazladan yük getirir, bu da yaşam kalitesini olumsuz etkiler ve bazı durumlarda opioid bağımlılığı tedavisinin etkisini değiştirir. Genel olarak, morfin, fentanil ve türevleri, perioperatif ağrı tedavisi için yaygın olarak kullanılan opioid agonistleridir, bununla birlikte, çalışmalar, kabızlığın, kronik ağrıyı tedavi eden opioid agonistlerinin en yaygın ve ağrılı yan etkisi olduğunu göstermiştir (Holzer 2007; Kurz ve Sessler 2003). İnce bağırsak üzerine yapılan çalışmalardan biri morfinin intestinal geçişteki etkisini ölçmektedir. Bu çalışmada sıçanlar 2 gruba ayrılmış ve her gruptaki sıçanların proksimal duodenumuna kateter yerleştirilmiştir. Ayrıca her gruptaki sıçanların ince bağırsaklarının proksimal kısmının seröz tabakasına elektrotlar yerleştirilmiştir. İnce bağırsaktaki geçiş ise radyoaktif krom izlenimi ile ölçülmüştür. Bağırsak hareketliliği morfin uygulanmasından önce ve sonra miyoelektrik aktivitenin izlenmesi ile belirlenmiştir. Potansiyel kasılma grafiklerinde artış gözlemlenmiş ve bunun doza bağımlı bir şekilde olduğu değerlendirilmiştir (Weisbrodt ve ark. 1980). 1983 yılında Galligan ve Burks tarafından yapılan çalışmada MSS'nin ince bağırsak hareketliliğine olan etkisini gözlemlenmişlerdir. Morfinin otonomik uyarılar üzerinde etkili olduğu ve böylece ince bağırsak hareketlerinde inhibisyona neden olduğu sonucuna ulaşmışlardır (Galligan ve Burks 1983). Yapılan bir başka çalışmada morfinin bağırsak hareketliliğini arttırmasını önlemek için rezerpin adlı bir ilaç kullanılmıştır. Sonuç olarak morfinin etkilerini azalttığı ve inhibisyonu önlediği gözlemlenmiştir (Stewart 1981). Tüm bu ince bağırsak hareketliliğini inceleyen çalışmalar radyoaktif krom elementi kullanılarak takip edilmiştir.

Rat aort kasına morfin ve diğer opioid reseptör agonistlerinin etkilerini inceleyen bir çalışmada noradrenalin ile indüklemeye önce bir opioid reseptör agonisti eklenmiş ve 10 dakika boyunca bekletilmiş. Noradrenalin ilavesinden sonra 3-5 dakika içinde zirveye çıkan ardından yavaşça gevşeyen bir kasılma paterni gözlemlenmiş. Ayrıca aynı çalışmada izole organ banyosunda asılı dinlenme halinde bulunan aort şeritlerine $10^{-7}M$ ve $10^{-6}M$ morfin ilave edilmiş. Eklenen morfin dozlarının kasılmaya bir etkisi olmamıştır (Parra ve ark. 1995).

Özellikle sindirim sistemine yoğunlaşan çalışmalarda morfinin ince bağırsak hareketliliğini arttırdığı ve morfin bağımlılığında görülen konstipasyon gibi bulgulara neden olduğu belirlenmiştir. Kendi çalışmamızda testiküler kontraksiyonda gruplar arasında anlamlı bir artış gözlemlenmesine rağmen grupların zamana göre gerimlerdeki değişimlerde anlamlı fark bulunamamıştır. Bunun nedeni uygulanan doz ve deney prosedürlerindeki farklılıklar olabilir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Günümüzde opioid bağımlılığı küresel bir sorun haline gelmiştir. Morfin bağımlılığı ve yoksunluk sendromunun insan sağlığı üzerine birçok olumsuz etkisi bulunmaktadır. Morfin ya da diğer opioidlerin aort, uterus, mesane, trakea, ince bağırsak gibi diğer düz kas hücrelerine etkisini araştıran çalışmalar bulunmakla birlikte morfin bağımlılığı oluşturulmuş sıçanlarda davranış ve testiküler kontraksiyon parametrelerini inceleyen bir çalışmaya literatürde rastlanmamıştır.

Çalışmamızda akut ve kronik ağrı tedavisinde kullanılan opioidlerden biri olan morfinin belirli doz ve sürelerde kullanımına bağlı olarak bağımlılık modeli oluşturulmuştur. Bu tez çalışmasıyla morfin bağımlılığı ve yoksunluğu oluşturulmuş sıçanlarda meydana gelen davranış ve testiküler kontraksiyon parametreleri incelenmiştir.

Bu araştırma ile çalışma kısıtlılıklarına rağmen (Morfin ve nalokson elde edilmesinde yaşanan sıkıntılar nedeniyle hem morfin uygulama süresi, hem de morfin dozu kısıtlı tutulmuştur. Ayrıca erkek hayvan temininde karşılaşılan zorluklar, grup sayılarını sınırlandırmıştır. Erkek sıçan ve morfin- nalokson tedarik sorunu halledildiği zaman ek grupla beraber bağımlılık süresi de arttırılarak çalışma genişletilebilir. alandaki bir boşluğu doldurmak anlamında az da olsa bir katkıda bulunulmaya çalışılmıştır.

Çalışmanın mevcut dizaynı ile hem morfin bağımlılığı, hem de yoksunluk sendromu oluşmasına rağmen, uygulama süresi ve doz arttırılmasıyla izole organ banyosunda testiküler doku kontraksiyon gerim- frekansı ve hayvan davranışları açısından daha farklı sonuçlar elde edilebilir. İmkanlar dahilinde moleküler ve histopatolojik parametreler de ilave edilerek literatüre katkı sağlanabilir.

7. KAYNAKLAR

- Koob GF. A Role for Brain Stress Systems in Addiction. *Neuron*. 2008; 59(1):11–34.
- Minami M, Satoh M. Molecular biology of the opioid receptors: structures, functions and distributions. *Neurosci Res*. 1995; 23(2):121-145. doi:10.1016/0168-0102(95)00933-k
- McDonald J, Lambert DG. Opioid receptors. *Contin. Educ. Anaesthesia, Crit. Care Pain*. 2005; 5(1):22–5.
- Matthes HW, Maldonado R, Simonin F. Loss of morphine-induced analgesia, reward effect and withdrawal symptoms in mice lacking the mu-opioid-receptor gene. *Nature*. 1996; 383(6603):819–23. doi:10.1038/383819a0
- Da Silva ED, Rodrigues JQD, De Souza BP, Caricati-Neto A, Jurkiewicz A at all. A comparison of histamine effects on the sympathetic neurotransmission of testicular capsule and rat vas deferens. *Naunyn. Schmiedebergs. Arch. Pharmacol*. 2014; 387(8):719–31.
- Pintar JE, Schachter BS, Herman AB, Durgerian S, Krieger DT. Characterization and localization of proopiomelanocortin messenger RNA in the adult rat testis. *Science*. 1984; 225(4662):632-634. doi:10.1126/science.6740329
- Hall JH, Editör; Çağlayan Yeğen B, Alican İ, Solakoğlu Z. *Guyton ve Hall Tıbbi fizyoloji*. 13. Basım. inc Güneş Tıp Kitabevleri. 2017; 5: 257-95.
- Ross MH, Pawlina W, Editör; Baykal B. *Histoloji Konu Anlatımı ve Atlas*. 6. Baskı. inc Palme Yayıncılık. 2014; 65: 545-601.
- Rhoades RA, Bell DR, Editör; Açar E, Ayyıldız M, Yıldırım M. *Tıbbi Fizyoloji*. 4. Baskı. inc İstanbul Tıp Kitabevleri. 2017; 3: 120-56.
- Webb RC. Smooth muscle contraction and relaxation. *Adv Physiol Educ*. 2003;27(1-4):201-206. doi:10.1152/advan.00025.2003
- Barany M. *Biochemistry of Smooth Muscle Contraction*. SanDiego, CA: Academic, 1996.
- Chitaley K, Weber DS, and Webb RC. RhoA/Rho-kinase,vascular changes and hypertension.*Curr Hypertension Rep* 2001; 139–44
- Solaro RJ. Myosin light chain phosphatase: a Cinderella ofcellular signaling. *Circ Res*. 2000; 87: 173– 75.
- Boron, WF, EL. *Boulpaep. Medical Physiology*. 3nd edition. International ed. Philadelphia, PA: Saunders/Elsevier, 2016; 7854: 247-255.
- Köylü H. *Tıbbi Fizyoloji*. 3. Baskı. İnc İstanbul Tıp Kitabevi. 2019: 22: 87-95.
- Mclean JR, Bell C. The Autonomic Innervation Of the Rat Testicular Capsule. *J. Reprod. Fertil*. 1972; 32: 253–58.
- Campos MB, Vitale ML, Ritta MN, Chiochio SR, Calandra RS. Catecholamine distribution in adult rat testis. *Andrologia*. 1990; 22(3): 247–50.
- Tainio H. Peptidergic innervation of the human testis and epididymis. *Acta Histochem*. 1994; 96(4): 415–420. Available at: [http://dx.doi.org/10.1016/S0065-1281\(11\)80028-0](http://dx.doi.org/10.1016/S0065-1281(11)80028-0).
- Jurkiewicz NH, Caricati-Neto A, Verde LF, Avellar MCW, Reuter HR, Jurkiewicz A. Sympathetic neurotransmission in the rat testicular capsule: Functional characterization and identification of mRNA encoding α 1-adrenoceptor subtypes. *Eur. J. Pharmacol*. 2006;543(1–3):141–50.
- Koob GF, Arends MA, Le Moal M. *Drugs, Addiction, and the Brain*. 1. Edition. İnc Elsevier. 2014. *World Drug Report 2021* (United Nations publication, Sales No. E.21.XI.8).
- Ehrlich AT, Kieffer BL, Darcq E. Current strategies toward safer mu opioid receptor drugs for pain management. *Expert Opin. Ther. Targets*. 2019; 23(4): 315–26.
- Schuchat A, Houry D, Guy GP. New data on opioid use and prescribing in the United States. *JAMA - J. Am. Med. Assoc*. 2017; 318(5): 425–26.

- Madde Bağımlılığı Tanı ve Tedavi Kılavuzu El Kitabı (ISBN:978-975-590-431-3), 2011, T.C. Sağlık Bakanlığı Sağlık Hizmetleri Genel Müdürlüğü, Ankara, Türkiye.
- Türkiye Uyuşturucu Raporu 2021 EGM Yayın Katalog No: 736 NDB Yayınları: 33 Yayın No: 2021/7 1. Baskı.
- Ehrlich AT, Semache M, Gross F, et al. Biased Signaling of the Mu Opioid Receptor Revealed in Native Neurons. *iScience*. 2019; 14: 47-57. doi:10.1016/j.isci.2019.03.011
- 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.* 2019; 20(17).
- Waldhoer M, Bartlett SE, Whistler JL. Opioid receptors. *Annu. Rev. Biochem.* 2004; 73: 953–90.
- Akil H, Owens C, Gutstein H, Taylor L, Curran E, et al. Endogenous opioids: overview and current issues. *Drug Alcohol Depend.* 1998; 51(1-2): 127-40. doi:10.1016/s0376-8716(98)00071-4
- Wang S. Historical Review: Opiate Addiction and Opioid Receptors. *Cell Transplant.* 2019; 28(3): 233-238. doi:10.1177/0963689718811060
- Przewłocki R, Przewłocka B. Opioids in chronic pain. *Eur J Pharmacol.* 2001;429(1-3):79-91. doi:10.1016/s0014-2999(01)01308-5
- Sverrisdóttir E, Lund TM, Olesen AE, Drewes AM, Christrup LL, Kreilgaard M. A review of morphine and morphine-6-glucuronide's pharmacokinetic-pharmacodynamic relationships in experimental and clinical pain. *Eur. J. Pharm. Sci.* 2015; 74: 45–62.
- Bhatt K, Kumar A. Mechanism of morphine addiction by inhibiting the soluble Guanylate Cyclase-Nitric Oxide (sGC-NO) pathway. *Math. Biosci.* 2015; 266: 85–92. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.mbs.2015.06.004>.
- American Psychiatric Association, Desk Reference to the Diagnostic Criteria From DSM-5, Arlington, VA, American Psychiatric Publishing, 2014.
- Christrup LL. Morphine metabolites. *Acta Anaesthesiol. Scand.* 1997;41(1 II):116–122. Uzbay T. Beyin Nasıl Bağımlı Oluyor? *Mesl. İçi Sürekli Eğitim Derg.* 2009; 21–22: 34–5.
- Stolerman I. Drugs of abuse: behavioural principles, methods and terms. *Trends Pharmacol. Sci.* 1992; 13(C): 170–76.
- Volkow ND, Li TK. Drug addiction: the neurobiology of behaviour gone awry. *Nat Rev Neurosci.* 2004; 5(12): 963-70. doi:10.1038/nrn1539
- Koob GF, Volkow ND. Neurocircuitry of addiction. *Neuropsychopharmacology.* 2010; 35(1): 217-38. doi:10.1038/npp.2009.110
- Blum K, Braverman ER, Holder JM, Lubar JF, Monastra VI, Miller D, Lubar JO, Chen TJH, Comings DE. The reward deficiency syndrome: A biogenetic model for the diagnosis and treatment of impulsive, addictive and compulsive behaviors. *J. Psychoactive Drugs.* 2000; 32(August 2014): 1–112.
- Comings DE, Blum K. Reward deficiency syndrome: Genetic aspects of behavioral disorders. *Prog. Brain Res.* 2000; 126(February): 325–41.
- Uhlve GR, Koob GF, Cable J, Kim S, Kwok S, Mayes LC, Potenza MN, Rutherford HJV, Strathearn L, Ozegbe PC, Aire TA, Madekurozwa MC, Soley JT, Da Silva ED, De Souza BP, Rodrigues JQD, Caricati-Neto A, Jurkiewicz A, et al. The neurobiology of addiction. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 2017; 714(1): 5–28. Available at: <http://link.springer.com/10.1007/978-3-319-69535-8>.
- Dorp ELA Van, Yassen A, Dahan A. Naloxone treatment in opioid addiction : the risks and benefits. 2007; 125–32.
- Connor PGO, Fiellin DA. Review. 2000; (2).
- Kenakin, T. Isolated blood vessel assays. *Current Protocols in Pharmacology*, Chapter 4: Unit 4.4. 2001; 4567; 546-589. DOI: 10.1002/0471141755.ph0404s00
- Montgomery LE, Tansey EA, Johnson CD, Roe SM, Quinn JG. Autonomic modification of intestinal smooth muscle contractility. *Adv Physiol Educ.* 2016; 40(1): 104-9. doi:

- Patejdl R, Gromann A, Bänisch D, Noack T. Effects of ajmaline on contraction patterns of isolated rat gastric antrum and portal vein smooth muscle strips and on neurogenic relaxations of gastric fundus. *Pflugers Arch.* 2019; 471(7): 995-1005. doi: 10.1007/s00424-019-02279-y
- Davis JR, Langford GA. Response of the isolated testicular capsule of the rat to autonomic drugs. *J. Reprod. Fertil.* 1969; 19(3): 595-98.
- Rahman S, Khan RA, Kumar A. Experimental study of the morphine de-addiction properties of Delphinium denudatum Wall. *BMC Complement Altern Med.* 2002; 2: 4-7. doi:10.1186/1472-6882-2-6
- Pintér-Kübler B, Ferenczi S, Núñez C, et al. Differential Changes in Expression of Stress- and Metabolic-Related Neuropeptides in the Rat Hypothalamus during Morphine Dependence and Withdrawal. *PLoS One.* 2013; 8(6): 1-12. doi:10.1371/journal.pone.0067027
- Cicero T.J, Bell R.D., Wiest W.G., Allison J.H., Polakoski K., et al. Function of the male sexorgans in heroin and methadone users, *N. Engl. J. Med.*, 1975; 296: 882-87.
- Mendelson JH, Mendelson JE, Patch VD Plasma testosterone levels in heroin addiction and during methadone maintenance, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 1975; 192; 211-17.
- Setchell BP, Breed WG. Editor; Neill JD, Knobil and Neill's Physiology of Reproduction. Third Edition. Inc. Elsevier. 2006; 33: 42-110.
- Ceccarelli I, De Padova AM, Fiorenzani P, Massafra C, Aloisi AM. Single opioid administration modifies gonadal steroids in both the CNS and plasma of male rats. *Neuroscience.* 2006; 140(3): 929-937. doi:10.1016/j.neuroscience.2006.02.044
- Babaei H, Sepehri G, Kheirandish R, Abshenas J, Monshi M. The effects of long-term administration of buprenorphine on blood testosterone level and morphometrical and histopathological changes of mouse testis. *Comp Clin Pathol* 2012; 21: 1527-1532
- Estomba H, Muñoz-Hoyos I, Gianzo M, Urizar-Arenaza I, Casis L, et al. Expression and localization of opioid receptors in Male germ cells and the implication for mouse spermatogenesis. *PLoS One.* 2016; 11(3): 1-16.
- Fard J, Karami M, Jalali Nadoushan M. Interaction of sulpiride with morphine in induction of male rat infertility. *Journal of Basic and Clinical Pathophysiology.*, 2019; 7(2): 6-11. doi: 10.22070/jbcp.2019.4722.1120
- Delitala G, Giusti M, Mazzocchi G, Granziera L, Tarditi W, et al. Participation of endogenous opiates in regulation of the hypothalamic-pituitary-testicular axis in normal men. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1983;57(6):1277-281.
- Delitala G, Grossman A, Besser M. Differential Effects of Opiate Peptides and Alkaloids on Anterior Pituitary Hormone Secretion. *Neuroendocrinology* 1983;37:275-279. doi: 10.1159/000123558
- Mauras N, Veldhuis JD, Rogol AD. Role of endogenous opiates in pubertal maturation: opposing actions of naltrexone in prepubertal and late pubertal boys. *J Clin Endocrinol Metab.* 1986; 62(6): 1256-1263. doi:10.1210/jcem-62-6-1256
- Daniell HW. Hypogonadism in men consuming sustained-action oral opioids. *J. Pain.* 2002; 3(5): 377-84.
- Yee A, Danaee M, Loh HS, Sulaiman AH, Ng CG. Sexual dysfunction in heroin dependents: A comparison between methadone and buprenorphine maintenance treatment. *PLoS One.* 2016; 11(1): 1-12.
- Paroli E, Melchiorri P. Inhibitory effect of morphine on metabolism of adrenal and testicular steroids. *Biochem. Pharmacol.* 1961; 6(1-2): 18-20.
- Smeriglio VL, Wilcox HC. Prenatal drug exposure and child outcome. Past, present, future. *Clin. Perinatol.* 1999;26: 1-16.

- Vuong C, Van Uum SH, O'dell LE, Lutfy K, Friedman TC. The effects of opioids and opioid analogs on animal and human endocrine systems. *Endocrine Rev.* 2009; 31: 98-132.
- Abdellatif RB, Elgamal DA, Mohamed EEM. Effects of chronic tramadol administration on testicular tissue in rats: An experimental study. *Andrologia.* 2015; 47(6): 674–79.
- Ahmed MA, Kurkar A. Effects of opioid (tramadol) treatment on testicular functions in adult male rats: The role of nitric oxide and oxidative stress. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* 2014; 41(4): 317–23.
- James RW, Heywood R, Crook D. Effects of morphine sulphate on pituitary-testicular morphology of rats. *Toxicol. Lett.* 1980; 7(1): 61–70.
- Ahmadnia H, Rezayat AA, Hoseyni M, Sharifi N, Khajedalooee M, et al. Short-period influence of chronic morphine exposure on serum levels of sexual hormones and spermatogenesis in rats. *Nephrourol.* 2016; 8(4).
- Ajdary M, Farzan S, Razavi Y, Arabdolatabadi A, Haghparast A. Effects of morphine on serum reproductive hormone levels and the expression of genes involved in fertility-related pathways in male rats. *Iran. J. Pharm. Res.* 2021; 20(1): 153–64.
- Takzare N, Samizadeh E, Shoar S, Zolbin MM, Naderan M, Lashkari A, Bakhtiarian A. Impacts of morphine addiction on spermatogenesis in rats. *Int. J. Reprod. Biomed.* 2016; 14(5): 303–08.
- Ghowsi M, Yousofvand N. Impact of morphine dependency and detoxification by methadone on male's rat reproductive system. *Iran. J. Reprod. Med.* 2015;13(5):275–82.
- Bawor M, Bami H, Dennis BB, Plater C, Worster A, Varenbut M, Daiter J, Marsh DC, Steiner M, Anglin R, Coote M, Pare G, Thabane L, Samaan Z. Testosterone suppression in opioid users: A systematic review and meta-analysis. *Drug Alcohol Depend.* 2015; 149: 1–9. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.drugalcdep.2015.01.038>.
- Almela P, Navarro-Zaragoza J, García-Carmona JA, et al. 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). doi:10.1371/journal.pone.0047089
- Seeber B, Böttcher B, D'Costa E, Wildt L. Opioids and reproduction. *Vitam. Horm.* 2019;111:247– 79.
- Banks FCL, Knight GE, Calvert RC, Turmaine M, Thompson CS, et al. Smooth muscle and purinergic contraction of the human, rabbit, rat, and mouse testicular capsule. *Biol. Reprod.* 2006; 74(3): 473–80.
- Parra L, Pérez-Vizcaíno F, Alsasua A, Martín MI, Tamargo J. mu- and delta-opioid receptor-mediated contractile effects on rat aortic vascular smooth muscle. *Eur J Pharmacol.* 1995; 277(1): 99-105. doi:10.1016/0014-2999(95)00067-u
- Schirmer SU, Eckhardt I, Lau H, Klein J, Degraaf YC, et al.. The cholinergic system in rat testis is of non-neuronal origin. *Soc. Reprod. Fertil.* 2011; 142(1): 157–66.
- Holzer P. Treatment of opioid-induced gut dysfunction. *Expert Opin. Investig. Drugs.* 2007; 16(2): 181–94.
- Kurz A, Sessler DI. Opioid-induced bowel dysfunction: Pathophysiology and potential new therapies. *Drugs.* 2003; 63(7): 649–71.
- Weisbrodt NW, Sussman SS, Stewart JJ, Burks TF. Effect of morphine sulfate on intestinal transit and myoelectric activity of the small intestine of the rat. *J Pharmacol Exp Ther.* 1980; 214(2): 333- 8. PMID: 7391981.
- Galligan JJ, Burks TF. Centrally mediated inhibition of small intestinal transit and motility by morphine in the rat. *J Pharmacol Exp Ther.* 1983; 226(2): 356-61. PMID: 6875849
- Stewart JJ. Interactions of reserpine and morphine on rat intestinal transit. *J Pharmacol Exp Ther.* 1981 ;216(3) :521-5. PMID: 7205632

8. ÖZGEÇMİŞ

Adı- Soyadı	Oğuzhan YAYLALI
Uyruğu	T.C

Eğitim Düzeyi	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mezuniyet Yılı
Yüksek Lisans	Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Fizyoloji AD.	Devam ediyor
Lisans	Necmettin Erbakan Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Beslenme ve Diyetetik Bölümü	2019
Lise	Selçuklu Anadolu Lisesi	2014

Görevi	Kurum	Süre (Yıl- Yıl)
1. Araştırma Görevlisi	Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı	2022- devam ediyor

Sertifikaları: Deney Hayvanları Kullanım Sertifikası, Deney Hayvanlarında Sterotaksik Uygulamalar Kursu

Özel İlgi Alanları: Kitaplar, bilim ve teknoloji dergileri, doğa

9. EKLER

9.1. Etik Kurul Onay Belgesi



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



Karar Sayısı: 2021 – 004

Karar Tarihi: 09.04.2021

Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Kararı

Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Fizyoloji ABD'den Doç. Dr. Z. Işık SOLAK GÖRMÜŞ ve Oğuzhan YAYLALI' nın sunduğu " **Morfin Bağımlı Sıçanlarda Testiküler Kontraksiyon Değişiklikleri: İn Vitro Çalışma**" başlıklı tez projesi 11 üyenin katılımı ile değerlendirildi.

Projede 4 grupta toplam 32 adet sıçan kullanılacağı ve anestezi altında servikal dislokasyon ile sakrifiye edileceği bildirilmiştir.

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.

Prof. Dr.
Mehmet Tuğrul YILMAZ
Başkan