

T.C.
NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Fizyoloji Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi

**SIÇANLARDAKİ MORFİN BAĞIMLILIĞININ HİPOKAMPAL APELİN
VE APELİN RESEPTÖRÜ GEN EKSPRESYON DÜZEYLERİNE ETKİSİ**

İbrahim YILDIZ

Danışman
Prof. Dr. Selim KUTLU

Bu araştırma Necmettin Erbakan Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 191318003 proje numarası ile desteklenmiştir.

Konya-2021

Necmettin Erbakan Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Fizyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Öğrencisi **İbrahim YILDIZ**'ın “Sıçanlardaki Morfin Bağımlılığının Hipokampal Apelin ve Apelin Reseptörü Gen Ekspresyon Sistem Üzerine Etkisi” başlıklı tezi tarafımızdan incelenmiş; amaç, kapsam ve kalite yönünden Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

KONYA/29.06.2021

Tez Danışmanı	Prof. Dr. Selim KUTLU NEÜ/Meram Tıp Fak./Fizyoloji AD.
Üye	Dr. Öğr. Üyesi Faik ÖZDENGÜL NEÜ/Meram Tıp Fak./Fizyoloji AD.
Üye	Prof. Dr. Mustafa AYYILDIZ 19 Mayıs Üni./Tıp Fak./ Fizyoloji AD.

Yukarıdaki tez, Necmettin Erbakan Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunun 04/08/2021 tarih ve 18/01 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.

29.06.2021

İbrahim YILDIZ

Tezin Tam Adı: Sıçanlardaki Morfin Bağımlılığının Hipokampal Apelin Ve Apelin Reseptörü Gen Ekspresyon Düzeylerine Etkisi

Öğrencinin Adı Soyadı: İbrahim YILDIZ

Dosyanın Toplam Sayfa Sayısı:34

Sıçanlardaki Morfin Bağımlılığının Hipokampal Apelin Ve Apelin Reseptörü Gen Ekspresyon Düzeylerine Etkisi -----
İbrahim YILDIZ

ORJİNALLİK RAPORU

% 10 BENZERLİK ENDEKSİ	% 9 İNTERNET KAYNAKLARI	% 4 YAYINLAR	% 5 ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ
----------------------------------	-----------------------------------	------------------------	--------------------------------

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1	Submitted to Konya Necmettin Erbakan University Öğrenci Ödevi	% 2
2	nek.istanbul.edu.tr:4444 İnternet Kaynağı	% 1
3	Submitted to Istanbul Aydin University Öğrenci Ödevi	% 1
4	docplayer.biz.tr İnternet Kaynağı	% 1
5	Submitted to The Scientific & Technological Research Council of Turkey (TUBITAK) Öğrenci Ödevi	<% 1
6	bmcpublichealth.biomedcentral.com İnternet Kaynağı	<% 1
7	www.journalagent.com İnternet Kaynağı	<% 1
8	www.bagimlilikdergisi.com İnternet Kaynağı	<% 1

Prof. Dr. Selim KUTLU

Teşekkür

Yüksek lisans yaptığım süre boyunca gerekli desteği gösteren saygıdeğer danışman hocam Prof. Dr. Selim KUTLU'ya, manevi desteği ile yanımda olan bölümümüzün güler yüzlü hocası Doç. Dr. Z. Işık SOLAK GÖRMÜŞ'e samimi ve içten tavırlarını esirgemeyen bizlere moral motivasyon depolayan Dr. Öğr. Üyesi Faik ÖZDENGÜL'e çalışmalar ve dersler konusunda her türlü desteğine başvurduğumuz Öğr. Gör. Dr. Hatice SOLAK ve Arş. Gör. Dr. Raviye ÖZEN KOCA'ya

Çalışmalarımın moleküler düzeyde incelenmesinde destek veren Prof. Dr. Ercan KURAR'a

Deneysel çalışmalarımda yanımda olan ve beni destekleyen Recep ERTAN'a kan merkezinde beraber çalıştığım grup arkadaşlarıma,

KONÜDAM ekibi olarak deneysel çalışma esnasında sabır ve özveri ile yardımlarını esirgemeyen Vet. Hek. Alpaslan ÖZKÜRKÇÜLER'e, Mustafa AYAN'a, Mevlüt KARAKAYA'ya ve Dr. Öğr. Üyesi Rahim KOCABAŞ'a,

Yoğun çalışma temposu esnasında manevi olarak yanımda olan sevgili annem, babam ve geniş aileme, eşim ve çocuklarıma,

Tez aşamamda benimle birlikte tüm gayreti ile desteğini esirgemeyen Abdussamed YILDIZ'a,

Sağlık Bilimleri Enstitüsü öğrenci işleri ekibine, tezimi 191318003 proje numarası ile destekleyen NEÜ Bilimsel Araştırma Koordinatörlüğü'ne teşekkür ederim.

İbrahim YILDIZ

İÇİNDEKİLER

Tez Kapağı ve iç Kapak.....	i
Tez Onay Sayfası	ii
Tez Beyan Sayfası.....	iii
Benzerlik Raporu	iv
Teşekkür.....	v
İçindekiler	vi
Kısaltmalar Ve Simgeler Listesi	viii
Şekiller Listesi	ix
Resimler Listesi	x
Tablolar Listesi	xi
ÖZET	xii
ABSTRACT.....	xiii
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Opioidler	3
2.1.1. Endojen Opioid Peptitler.....	3
2.1.2. Opioid Reseptörler ve Alt Tipleri	4
2.1.3. Opioidlerin Hücreyel Etki Mekanizmaları	4
2.1.4. Opioidlerin Ödül Sistemine Etkileri	5
2.1.5. Morfin	6
2.1.6. Nalokson	9
2.2. Apelin.....	10
2.2.1. Apelinin Genel Yapısı ve Tarihçesi.....	10
2.2.2. Apelinerjik Sistem	11
2.2.3. Apelin Reseptörü	12
2.2.4. Apelinin Etkileri.....	12
2.3. Hipokampus	14
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	16

3.1. Hayvan Deneyleri	16
3.1.1. Morfin Bağımlılığı ve Morfin Çekilmesi Uygulama Aşamaları	16
3.1.2. Deneyin Sonlandırılması ve Dokuların Toplanması	18
3.1.3. Hipokampus Örneklerinden Total RNA İzolasyonu.....	18
3.1.4. Total RNA Örneklerinin Kalite Kontrolü	19
3.1.5. Total RNA Örneklerinin gDNA Kontaminasyonunun Temizlenmesi.....	19
3.1.6. Primer Diyazını	19
3.1.7. Reverse Transkriptaz (RT) Reaksiyonu.....	20
3.1.8. Gerçek Zamanlı Kantitatif Polimeraz Zincir Reaksiyonu (qRT-PZR)	20
3.2. İstatistiksel Yöntem	21
4. BULGULAR.....	23
4.1. Davranış Bulguları	23
4.2. Moleküler Bulgular	31
5. TARTIŞMA.....	32
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	35
7. KAYNAKLAR	36
8. ÖZGEÇMİŞ.....	42
9. EKLER	43

KISALTMALAR VE SİMGELER LİSTESİ

ADH: Antidiüretik Hormon

APJ: Apelin Reseptörü

KOR: Kappa Opioit Reseptörü

MOR: Mü Opioit Reseptörü

mPFC: Medial Prefrontal Korteks

MRF: Morfin

MSS: Merkezi Sinir Sistemi

N/OAQ: Nosisseptin/Orfanin FQ Sistemi

NAc: Nükleus Akümbens

NLK: Nalokson

NOR: Nosisseptin Orfanin Reseptörü

PDN: Prodinorfin Sistemi

PENK: Proenkefalin Sistemi

POMK: Proopiomelanokortin Sistemi

PVN: Paraventriküler Nükleus

SON: Supraoptik Nükleus

VTA: Ventral Tegmentel Alan

ŞEKİLLER LİSTESİ

<u>Şekil No:</u>	<u>Sayfa No:</u>
Şekil 2. 1. Opioid reseptörlerin etki mekanizması.....	5
Şekil 2. 2. Mezokortikolimbik ödül yolağı.....	6
Şekil 2. 3. Morfinin kimyasal formülü	7
Şekil 2. 4. Naloksonun kimyasal formülü.....	10
Şekil 2. 5. Apelin ve elabela izoformları	11
Şekil 2. 6. Apelinerjik sistem.....	12
Şekil 2. 7. Sıçanlarda Apelin ve APJ'nin Eksprese Olduğu Vücut Yapıları.	14
Şekil 3. 1. Çalışmada kullanılan genlere ait qRT-PZR ürünlerinin jel görüntüsü	21
Şekil 3. 2. Çalışmada kullanılan genlere ait melting curve analiz eğrileri.....	21

RESİMLER LİSTESİ

<u>Resim No:</u>	<u>Sayfa No:</u>
Resim 2. 1. Haşhaş bitkisinin kapsülünün çizilmiş ve sütünün çıkartılmış hali.....	7
Resim 4. 1. Kontrol, Morfin (MRF) ve Morfin+Nalokson (MRF+NLK) ve gruplarındaki silkelene sayıları. *p<0,05.	23
Resim 4. 2. Kontrol, Morfin (MRF) ve Morfin+Nalokson (MRF+NLK) grubundaki sıçrama sayıları. **p<0,01.....	24
Resim 4. 3. Kontrol, Morfin (MRF) ve Morfin+Nalokson (MRF+NLK) gruplarındaki şaşlanma sayıları.....	24
Resim 4. 4. Kontrol, Morfin (MRF) ve Morfin+Nalokson (MRF+NLK) grubundaki süslenme sayıları.....	25
Resim 4. 5. Kontrol, Morfin (MRF) ve Morfin+Nalokson (MRF+NLK) grubundaki defekasyon frekans sayıları. *p<0,05, **p<0,01	25
Resim 4. 6. Kontrol, Morfin (MRF) ve Morfin+Nalokson (MRF+NLK) grubundaki anormal postür sayıları. *p<0,01, **p<0,001	26
Resim 4. 7. Kontrol, Morfin (MRF) ve Morfin+Nalokson (MRF+NLK) grubundaki gözleri kısma sayıları. **p<0,01	27
Resim 4. 8. Kontrol, Morfin (MRF) ve Morfin+Nalokson (MRF+NLK) grubundaki diş çıtırdatma sayıları. ***p<0,001	27
Resim 4. 9. Kontrol, Morfin (MRF) ve Morfin+Nalokson (MRF+NLK) grubundaki tıksırma sayıları. *p<0,05.....	28
Resim 4. 10. Kontrol, Morfin (MRF) ve Morfin+Nalokson (MRF+NLK) grubundaki yuvarlanma sayıları. ***p<0,001.....	28
Resim 4. 11. Kontrol, Morfin (MRF) ve Morfin+Nalokson (MRF+NLK) grubundaki % ağırlık kaybı sayıları.....	29
Resim 4. 12. Kontrol, Morfin (MRF) ve Morfin+Nalokson (MRF+NLK) grubundaki yoksunluk skor sayıları. *p<0,001	29
Resim 4. 13. Kontrol, Morfin (MRF) ve Morfin+Nalokson (MRF+NLK) grubundaki Apelin gen ifade düzeyi.....	31
Resim 4. 14. Kontrol, Morfin (MRF) ve Morfin+Nalokson (MRF+NLK) grubundaki APJ reseptörü gen ifade düzeyi.....	31

TABLolar LİSTESİ

<u>Tablo No:</u>	<u>Sayfa No:</u>
Tablo 2. 1. Opioit reseptörlerin (Mü, Delta, Kappa, Nosispetin) bulunduğu bölgeler.....	4
Tablo 3. 1. Morfin çekilme bulguları ve değerlendirme skor tablosu.....	18
Tablo 3. 2. qPZR analizlerinde kullanılan genlerin primer dizileri.....	20
Tablo 4. 1. Deneyler sonu yoksunluk bulguları	30

ÖZET

T.C.

NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Sıçanlardaki Morfin Bağımlılığının Hipokampal Apelin Ve Apelin Reseptörü Gen Ekspresyon Düzeylerine Etkisi

İbrahim YILDIZ

Fizyoloji Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi / Konya - 2021

Opioit bağımlılığıyla ilgili birçok bilimsel araştırma bulgusu olmasına rağmen, fizyopatolojik süreçler hakkında halen bilinmeyen ve araştırılması gereken alanlar bulunmaktadır. Sinir sisteminde yeni nöron oluşumu ve sinaptogenez gelişimi olarak ifade edilebilen nörogenez, birçok nöropsikiyatrik patolojide bozulmaktadır. Bağımlılık da bu patolojiler arasında yer almaktadır.

Apelin sinir sistemindeki bazı bölgelerde sentezlenerek fizyolojik etkilere sahip olan yeni bir peptittir. G protein bağlantılı membran reseptörü aracılı etkiler oluşturmaktadır. Apelin ve reseptörü APJ'nin opioit bağımlılığında rolü hakkında bir araştırma bulgusu bulunmamaktadır. Bu çalışmanın amacı, morfin bağımlılığı oluşturulmuş sıçanlarda hipotalamus ve hipokampusta apelinergic sistem gen ekspresyon seviyesinin değişip değişmediğinin araştırılmasıdır.

Araştırmanın deneysel aşamalarında 36 adet yetişkin dişi sıçanda morfin bağımlılığı modeli oluşturulmuştur. Kontrol, morfin ve morfin+nalokson şeklinde 3 gruba ayrılan hayvanlar 7 gün boyunca morfin ve morfin+nalokson gruplarına morfin, kontrol grubuna ise serum fizyolojik enjekte edilmiştir. 7. gün sabahında morfin+nalokson grubuna nalokson diğer gruplara ise serum fizyolojik enjekte edilerek hareketleri gözlemlenmiştir. Deneylerin sonunda hayvanların beyin dokuları çıkarılarak hipokampus dokuları elde edilmiştir. Hipokampusta apelin ve APJ gen ekspresyon düzeyleri analiz edilmiştir.

Davranış bulguları morfin bağımlılığının belirgin olarak oluştuğunu göstermiştir. MRF grubundaki apelin gen ekspresyon düzeyi anlamlı olmasa da artış göstermiştir. Bu bulgular bağımlılık süreçlerinin, muhtemelen azalan nörogenezin kompanze edilmesine yönelik olarak hipokampustaki apelin ifade düzeyini artırabileceğini düşündürmektedir.

Anahtar Kelimeler: Apelin, APJ, hipokampus, morfin, nalokson.

ABSTRACT

REPUBLIC OF TURKEY

NECMETTİN ERBAKAN UNIVERSITY

HEALTH SCIENCES INSTITUTE

Effect of Morphine Dependence on Hippocampal Apelin and Apelin Receptor Gene Expression Levels in Rats

İbrahim YILDIZ

Department of Physiology

Master Thesis / Konya - 2021

Although there are many scientific research findings about opioit addiction, there are still unknown and research areas about the pathophysiological processes. Neurogenesis, which can be expressed as the formation of new neurons and the development of synaptogenesis in the nervous system, is impaired in many neuropsychiatric pathologies. Addiction is among these pathologies.

Apelin is a new peptite that has physiological effects by being synthesized in some regions of the nervous system. G protein-coupled membrane receptor mediated effects. There are no research findings on the role of apelin and its receptor APJ in opioit addiction. The aim of this study is to investigate whether apelinergic system gene expression levels change in hypothalamus and hippocampus in morphine-dependent rats.

In the experimental stages of the study, a morphine addiction model was created in 36 adult female rats. Animals divided into 3 groups as control, morphine and morphine+naloxone were injected with morphine to the morphine and morphine+naloxone groups, and saline to the control group for 7 days. On the morning of the 7th day, morphine+naloxone group was injected with naloxone and the other groups were injected with physiological saline and their movements were observed. At the end of the experiments, the brain tissues of the animals were removed and hippocampus tissues were obtained. Apelin and APJ gene expression level markers in the hippocampus were analyzed.

Behavioral findings reveal that morphine dependence is obviously occurred. The apelin gene expression level in the MRF group increased, although not significantly. These findings suggest that opioid dependency processes may increase apelin expression in the hippocampus, possibly to compensate for decreased neurogenesis.

Keywords: Apelin, APJ, hippocampus, morphine, naloxone.

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Dünya genelinde olduğu gibi ülkemizde de sürekli artış gösteren bağımlılık türlerinden biri olan madde bağımlılığı, kişilerin ruh ve beden sağlığını bozan, sosyal hayatlarını etkileyen, devamlı madde kullanma isteği oluşturan ve bu isteğe karşı koyamamaya karakterize bir durumdur (<https://www.unodc.org/unodc/en/data-and-analysis/WDR-2009.html>). Toplum ve aile baskıları, sosyal ilişkilerin kötüye gitmesi, hayat şartlarının zorlaşması, işsizlik, yalnızlaşma ve eğitim sistemi sorunları gibi nedenler insanları bir kaçış yolu olarak görebilecekleri madde bağımlılığına itmektedir (<https://www.unodc.org/unodc/en/data-and-analysis/WDR-2004.html>).

Madde bağımlılığı denildiğinde opiyat bağımlılık akla gelen en önemli türlerdendir. Opiyatlar tıpta güçlü bir ağrı kesici olarak kullanılan etkili ilaçlardır. Eroin dışındaki opiyat bağımlılığının en çok görüldüğü kişiler, sağlık çalışanları, ilaca kolayca ulaşabilen tedarikçiler ve opiyatlarla tedavi gören hastalardır (Jaffe ve Starin 2007; Jaffe J. 2016).

Opiyatlar, haşhaş bitkisinden elde edilen güçlü ağrı dindirme özelliği olan aynı zamanda keyif veren bağımlılık yapıcı maddelerdir (Sağlık Bakanlığı TİTCK 2016; Sağlık Bakanlığı 2016). Opiyat ilaçların içerisinde bulunan morfin merkezi sinir sisteminde etkili, şiddetli ağrıların azaltılmasında aktif kullanılan narkotik bir ilaçtır. Tedavi süreci boyunca sürekli kullanıma bağlı olarak bağımlılığa sebep olabilmektedir. Morfinin sürekli kullanımını sonrası birden kesilmesi ile de yoksunluk oluşur.

İlk defa 1998'de sığır mide sıvısından elde edilen apelin, sinir sistemindeki bazı bölgelerde sentezlenen ve fizyolojik etkilere sahip olan yeni bir peptit türüdür (Tatemoto ve ark. 1998). Apelinin birden fazla dokuda üretildiği tespit edilmesine rağmen fizyolojik ve patofizyolojik hangi olaylarda görevli olduğu tam olarak belirlenememiştir (Shin ve ark. 2017). Apelin olgun adipositler tarafından da üretildiği için bir adipokin olarak da kabul edilmektedir (Castan ve ark. 2011).

Hipokampus limbik sistemin bir parçası olup; öğrenme, bellek, duygusal davranışlar ve hipotalamus işlevlerine destek olmak gibi olaylarla ilgilidir (Anand ve Dhikav 2012).

Bu tez çalışmasında sıçanlardaki morfin bağımlılığının hipokampal apelin ve apelin reseptörü gen ekspresyon düzeylerine etkisinin araştırılması hedeflenmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Opioidler

Opioidler bağımlılık yapıcı maddelerdir. Yaşamı boyunca en az bir defa opioid madde kullanmış kişi sayısının dünya genelinde 15-21 milyon civarında olduğu bildirilmektedir (Ögel ve ark. 2012). 1999 ve 2014 arası dönemde Avrupa'da, yüksek doz opioid kullanımı, toplamda 165 bin kişinin hayattan kopmasına sebep olmuş ve ilaç türü olarak en çok sayıda ölümden sorumlu tutulmuştur (Avrupa Uyuşturucu Raporu, 2017 EMCDDA).

Opioidler üç grupta sınıflandırılır. Bunlar doğal olan opioidler, yarı sentetik olan opioidler ve sentetik olan opioidlerdir. Doğal opioidler, içerisinde morfin ve kodeinin de bulunduğu saf olarak elde edilen opioid türleridir. Yarı sentetik opioidler, morfinden elde edilen eroinin de içinde olduğu gruptur. Sentetik opioidlere örnek olarak morfina, benzomorfan ve fenilpiperidin türevleri söylenebilir (Özden 2004; Kaplan ve Sadock 2005; Simon 2005; Yaluğ ve ark. 2008).

2.1.1. Endojen Opioid Peptitler

Opioid peptitler, endorfinler veya opiopeptinler opioidlere benzeyen farmakolojik özelliklerde olan endojen opioid peptitler şeklinde isimlendirilen endojen peptitlerin etkilerine yardımcı olan reseptörleri uyararak etkilemektedir (Katzung ve ark. 2014).

Endojen opioid olan peptitler proopiomelanokortin sistemi (POMK), Proenkefalin sistemi (PENK), Prodinorfin sistemi (PDN) ve Nosisseptin/Orfanin FQ sistemi (N/OFQ) olarak dört sistem şeklinde ele alınmaktadır:

(1) POMK sistemi: Bu sistemde β endorfin ve endomorfinler bulunmaktadır. Bunlar opioid reseptörlerinden olan μ (mü) reseptörlerine (MOR) karşı güçlü bir afinite gösterirler.

(2) PENK sistemi: Bu sistemde Met-enkefalin, lö-enkefalin gibi başlıca enkefalinler bulunmaktadır. μ ve delta (δ) opioid reseptörlerine (DOR) karşı güçlü afinite gösterirler.

(3) PDN sistemi: Bu sistemde endojen opioid peptitlerden olan alfaneoendorfin, β -neoendorfin, dinorfin A ve B bulunmaktadır. Kappa (κ) opioid reseptörlerine güçlü afinite gösterirler.

(4) N/OFQ sistemi: Bu sistemin peptitleri nosisseptin, orfanin-2 ve nosistatindir. μ , δ ve κ reseptörlerini çok fazla etkilemeyen, 1990'da tanımı yapılmış opioit peptit sistemidir ve N/OFQ reseptörlerine afinitesi vardır (Kayaalp 2012).

2.1.2. Opioit Reseptörler ve Alt Tipleri

MOR μ 1, μ 2, μ 3 alt türlere sahiptir. Korteks, talamus ve omurilikte bulunmaktadır. Fiziksel bağımlılık, öfori ve miyozis gibi görevleri vardır (Kayaalp 2012).

DOR, DOR1, DOR2 alt türlere sahiptir (Peng ve ark. 2012). Amigdala, periferik duyu nöronları, korteks ve bazal gangliyonlarda bulunur. Analjezi ve vazodilatasyonda rol oynadığı bildirilmiştir (Gendron ve ark. 2016).

KOR, KOR1, KOR2, KOR3 alt türlere sahiptir. Beyin, hipotalamus ve omurilikte bulunur. Sedasyon, disfori ve beslenme gibi işlevlerde rol oynamaktadır (Baser ve ark. 2018).

Nosiseptin reseptörü (NOR) NOR1 alt türüne sahiptir. Korteks, hipokampus, hipotalamus ve amigdala da görülür. Öğrenme, iştah, stres ve hafıza gibi görevleri vardır (Toll ve ark. 2016).

Tablo 2. 1. Opioit reseptörlerin (Mü, Delta, Kappa, Nosispetin) bulunduğu bölgeler (Demirkapu ve Yananlı, 2020'den uyarlanmıştır).

Reseptör türü	Bulunduğu bölgeler
Mü	Talamus, Kaudat putamen, Neokorteks, NAc, Amigdala, İnferior/superior kollikulun interpedinküler kompleksi
Delta	Olfaktor bulbus, Neokorteks, Kaudat putamen, NAc, Amigdala
Kappa	Serebral korteks, NAc, Hipotalamus
Nosispetin	Serebral korteks, Anterior olfaktor nükleus, Lateral septum, Ventral önbeyin, Hipokampus, Hipotalamus, Amigdala, Substansia nigra, VTA, LC

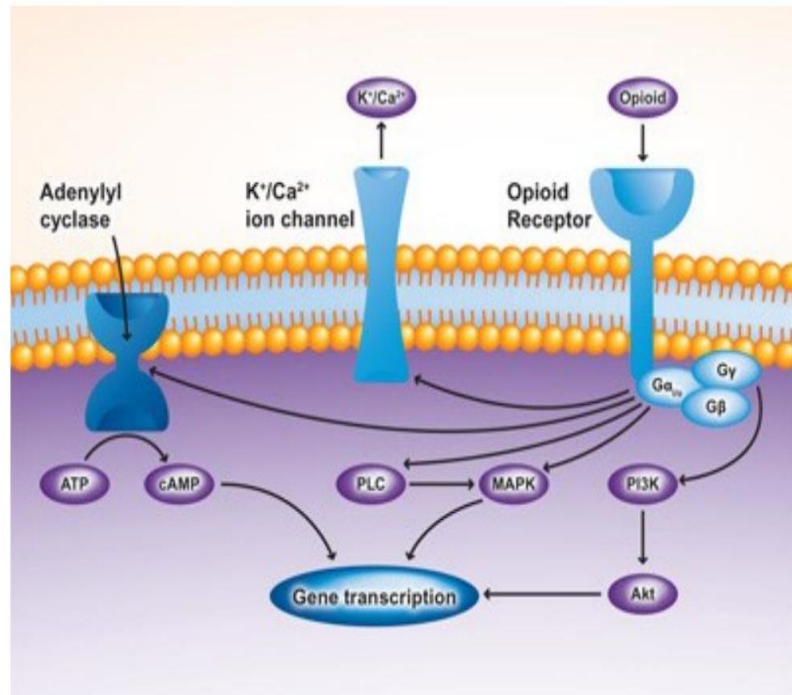
2.1.3. Opioitlerin Hücresel Etki Mekanizmaları

Opioitler, reseptörlerini etkileyerek endojen opioit peptitlerin etkilerini taklit ederler. Opioitlerin sitolojik düzeyde etkileri üç şekilde gerçekleşir.

1. Adenilat siklaz: Gi/o proteinleri vasıtası ile bütün opioit reseptörleri nöron hücrelerinde adenilat siklazı inhibe eder. Siklik AMP düzeyini azaltarak inhibisyon etkisi oluşturur (Al-Hasani ve Bruchas 2011).

2. Potasyum kanalları: Nöron hücre zarındaki K⁺ kanallarının açılması ile potasyum geçişini çoğaltır (Yudin ve Rohacs 2018).

3. Voltaj bağımlı kalsiyum kanalları: Nöron hücre zarındaki kalsiyum kanallarını kapatarak hücre içine kalsiyum girişini düşürür. Presinaptik bölgede intraselüler Ca⁺⁺ düzeyini azaltarak inhibisyona katkı sağlar (Mochida 2018).

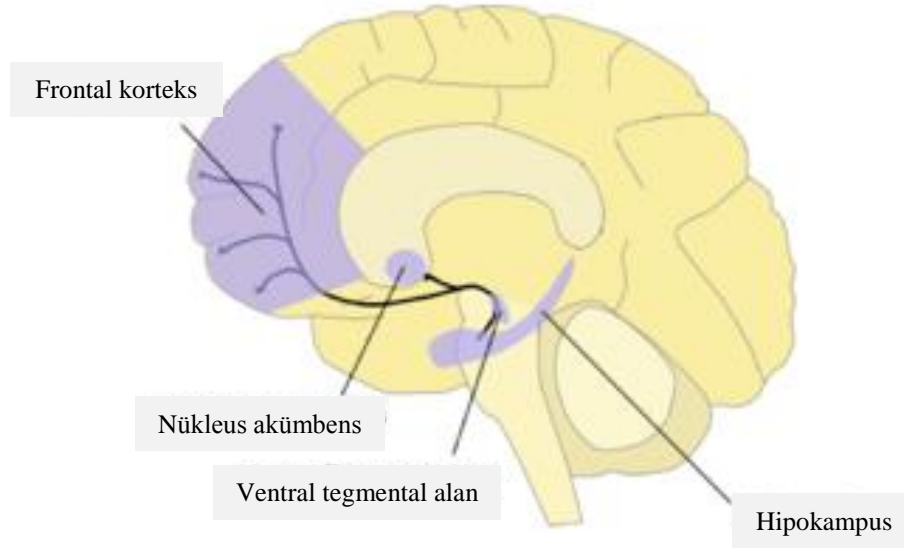


Şekil 2. 1. Opioit reseptörlerin etki mekanizması (<https://www.abcam.com/index.html?pageconfig=resource&rid=14861>) (05 Şubat 2021).

2.1.4. Opioitlerin Ödül Sistemine Etkileri

Bütün bağımlılık yapıcı maddeler mezokortikolimbik dopaminerjik sistemini uyarmaktadır. Literatürde başlangıç olarak ventral tegmental alandan (VTA), mediyal prefrontal korteks (mPFC) ve nükleus akümbense (NAc) projeksiyon yapan dopamin nöronlarının opioit maddelerin pekiştirilmesinde etkili olduğu gösterilmiştir. Etki doğrudan veya internöronlar aracılığıyla dolaylı olarak gerçekleşmektedir. Opioit maddeler doğrudan veya dolaylı olarak VTA üzerinde etki göstererek NAc'den dopamin salınımına sebep olurlar (Koob ve Volkow 2016). NAc

VTA, prefrontal korteks, hipokampus, amigdaladan gelen önemli limbik mesajların toplandığı bir bölgedir.



Şekil 2. 2. Mezokortikolimbik ödül yolağı.

(<http://www.acikbilim.com/wp-content/uploads/2015/03/bagimlilik5.png>) (8 Şubat 2021).

2.1.5. Morfin

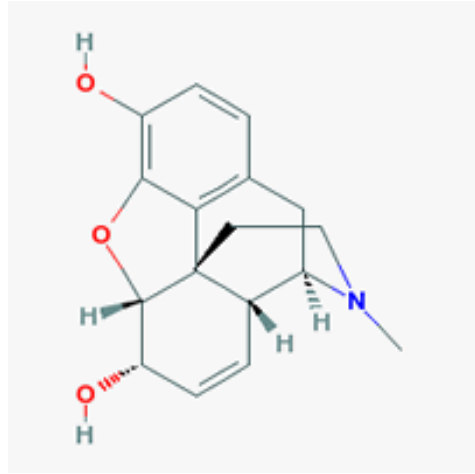
2.1.5.1. Morfinin Genel Yapısı ve Tarihçesi

Papaver somniferum Latince ismi ile bilinen afyon (opium) haşhaş bitkisinin olgunlaşmamış kapsülünün çizilmesi ile ortaya çıkan afyon sakızı ya da haşhaş sütü de denen sıvının kurutulmuş haline morfin denir (Yaluğ ve ark. 2008). Morfinin bilinen en az 5000 yıllık kullanımı vardır. Morfinin kökeninin Doğu Asya, Mezopotamya ya da Anadolu olduğu tahmin edilmektedir. Bu bölgelerde öksürük giderici, ağrı kesici ilaç ve aynı zamanda keyif veren bir madde olarak morfin kullanılmıştır. Morfin adı, Grek kültüründe uyku tanrısı anlamında olan Morpheus'dan gelmektedir. 1805'de Almanya'nın Hannover şehrinden eczacı Frederic Sertuner tarafından afyondan izole edilmiştir. İlk defa kullanım amacı afyon bağımlılığı tedavisi içindir. Analjezik etkiden dolayı en sık kullanılan opioittir (Schiff 2002). Genel olarak onkojik ağrılarda, ameliyat sonrasında oluşan ağrılarda ve yüksek şiddetli ağrı durumlarında kullanılmaktadır. Fakat tedavi sırasında bağımlı olma durumuna, tolerans gelişmesine ve terkedildiğinde ise yoksunluk sendromunun ortaya çıkmasına neden olmaktadır (Koob ve Le Moal 2006).



Resim 2. 1. Haşhaş bitkisinin kapsülünün çizilmiş ve sütünün çıkartılmış hali.

Morfinin kimyasal yapısında fenolik ve alkol grubu olmak üzere 2 tane hidroksil grubu bulunur. Bu özelliği ile morfin diğer alkaloidlerden farklılık kazanır. Bilimsel isimlendirme 7,8didehidro-4,5-epoksi-17-metilmorfinan-3,6-diol şeklindedir. Kapalı formül yapısı $C_{17}H_{19}NO_3$ 'dir.



Şekil 2. 3. Morfinin kimyasal formülü (<https://www.ilactr.com/ilac/morfin.html>; 12 Mart 2021).

2.1.5.2. Morfinin Kullanım Yolları

Morfin, damar yolu ile oral yolla ve deri altı yollarla kullanılmaktadır. Morfinin damar yolu ile verilmesinin akabinde en yüksek analjezi 20. dakikadan itibaren görülmeye başlar. Bunun sebebi ilacın yavaş nüfuz etmesidir. Hızlı etkisinden dolayı genellikle deri altı enjeksiyon tercih edilir. Deri altına enjekte

edilen morfinin %60'ının ilk yarım saat içinde emildiği tahmin edilmektedir. Deri altına enjeksiyon yapıldıktan sonra 30-60 dakikada beyindeki yoğunluğu en üst seviyeye ulaşır. Deri altı enjeksiyondan 1-1,5 saat sonra üst düzey analjezi görülür (Özden 2004).

2.1.5.3. Morfinin Etkileri

Morfin reseptörlerini uyararak ağrının algılanması analjezik etki, mental aktiviteyi etkileyerek sedatif etki, anksiyeteyi ortadan kaldırması ile trankilizan etki, öksürük merkezini inhibe etmesi ile antitüssif etki, miyozise sebep olmasıyla miyotik etki, antidiüretik hormonun ortaya çıkışını sağlaması ile antidiüretik etki, barsak hareketlerini yavaşlatarak antidiyarik etki gösterir (Trescot ve ark. 2008; Brunton ve ark. 2011; Schiff 2002; Christie 2008).

2.1.5.4. Morfin Bağımlılığı

Morfin bağımlılığı madde bağımlılığında da olduğu gibi iki sistem ile ele alınır. Bunlar psikolojik (ruhsal) ve fizyolojik (fiziksel) sistemlerdir. Psikolojik olarak maddenin olumlu olarak yatıştırıcı etki yapmasına bağlıdır. Kullananların morfini almaya karşı sürekli isteği vardır. Fizyolojik sistemde morfin bağımlılığı, morfinin belirli bir süre kullanılmış olmasına bağlı olarak vücudun maddeye karşı bir denge oluşturması ile maddeyi alamadığı zaman yoksunluğa girmesidir. Madde kesilmediği sürece belirti vermez ve fark edilmez (Uzby 2005).

2.1.5.5. Morfin Yoksunluğu (Çekilme)

Morfinin tekrarlayan kullanımına bağlı tolerans ve fiziksel bağımlılık gelişir ve kullanımının kesilmesi durumunda ise yoksunluk sendromu meydana gelir. Morfin kullanımında sıklıkla bariz düzeylerde tolerans gelişmekte ve madde kullanımı kesilince yoksunluk tablosu ortaya çıkmaktadır. Kişilerde ilaç arama davranışına neden olabilecek birçok fizyolojik değişiklikler de görülebilmektedir. Fiziksel olarak bağımlı kişi artık ilacın sürekli uygulanmasına gereksinim duyar. İlacın kullanımının kesilmesi ya da ilacın bir antagonistinin kişiye uygulanması durumunda ise çekilme sendromu (yoksunluk sendromu) meydana gelir. Yoksunluk sendromu fiziksel (fizyolojik) bağımlılığın en açık belirteçlerindedir. Yoksunluk belirtileri olarak burun akıntısı, esneme ve göz yaşarması, huzursuzluk, titreme, ishal, kusma, kas spazmları ve depresif ruh hali görülmektedir. Morfin çekilmesi için en aktif kullanılan ilaç naloksondur. Yoksunluğun gelişme hızı ve şiddeti, ilgili ilacın

yarılanma ömrü ile orantılıdır. İlacın yarılanma ömrü kısaldıkça yoksunluk belirtilerinin görülmesi o kadar hızlı olur.

2.1.5.6. Morfin Toleransı

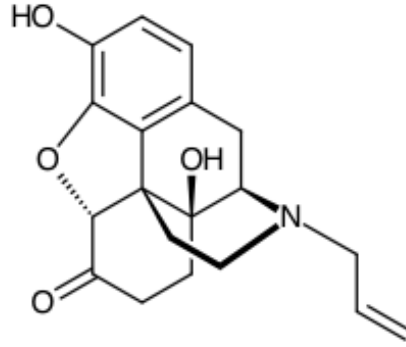
Morfin toleransı fizyolojik bir olay olup, belirli bir süre kullanımından sonra aynı dozun etkisini yitirmesidir. Bir diğer deyişle aynı etkiyi elde edebilmek için daha fazla morfin kullanımının gerekli hale gelmesidir. Tolerans kronik ağrılı hastalarda sık görülen bir olgudur. Devamlı kullanıldığında morfinin potansiyelindeki devamlı düşme ve aynı analjezi düzeyini sağlamak için daha yüksek dozlara gereksinim duyulmasıdır (Özden 2004).

Morfin bağımlısı olan kişilerin çoğu tolerans geliştirmiştir. Bu durum doğuştan ve kazanılmış olarak iki kısma ayrılır. Doğuştan tolerans, genetik durum sebebi ile istenen düzeyde farmakokinetik ve farmakodinamik farklılıkların meydana gelmemesi durumudur. Kazanılmış tolerans ise farmakodinamik, farmakokinetik ve öğrenilmiş tip olarak 3'e ayrılır. Farmakokinetik tolerans maddenin devamlı alınmasından kaynaklı metabolizmanın hızlanması ve dağılımının artmasına bağlıdır. Farmakodinamik tolerans maddenin benzer olduğu maddeye maruz bırakılması sonucu reseptörlerin sayısının azalmasına bağlıdır. Öğrenilmiş tip tolerans ise madde kullanımının yol açtığı, fiziksel deformasyonların kullanan kişi tarafından öğrenilmesi ile kendi gayretine bağlı olarak bağımlılığın bastırılması sonucu oluşur. Bağımlı maddeyi kullanmadan önce, maddenin yapacağı etkilere karşı, karşıt bir refleks oluşturur. Bu durumda maddenin etkisi daha az olur.

2.1.6. Nalokson

Kimyasal adı N-alilnoroksimorfon hidroklorür olan nalokson, nalorfinden daha güçlü ve tam etkili bir antagonisttir. Farmakolojik olarak değerlendirildiğinde, naloksonun bir antagonist olarak μ , δ ve κ reseptörlerini etkilediği ve N/OFFQ reseptörlerini çok fazla etkilemediği bilinmektedir. Naloksonun solunum baskılanması, koma, miyozis, hipotansiyon ve hiperglisemi gibi morfin ve morfine benzeyen analjeziklerin etkilerini de antagonize ettiği bilinmektedir. Deney hayvanlarında kullanılan miktara göre analjezik ya da tersine antianaljezik etkili olabildiği gösterilmiştir. Deney hayvanlarında, periakvaduktal bölgenin ve beyin sapında ağrı ile ilişkili diğer nükleusların elektriksel uyarımı ile oluşturulan

analjeziyi antagonize edebildiği gösterilmiştir (Kayaalp 2000). Kimyasal olarak nalokson $C_{19}H_{21}NO_4$ kapalı formül yapısındadır.

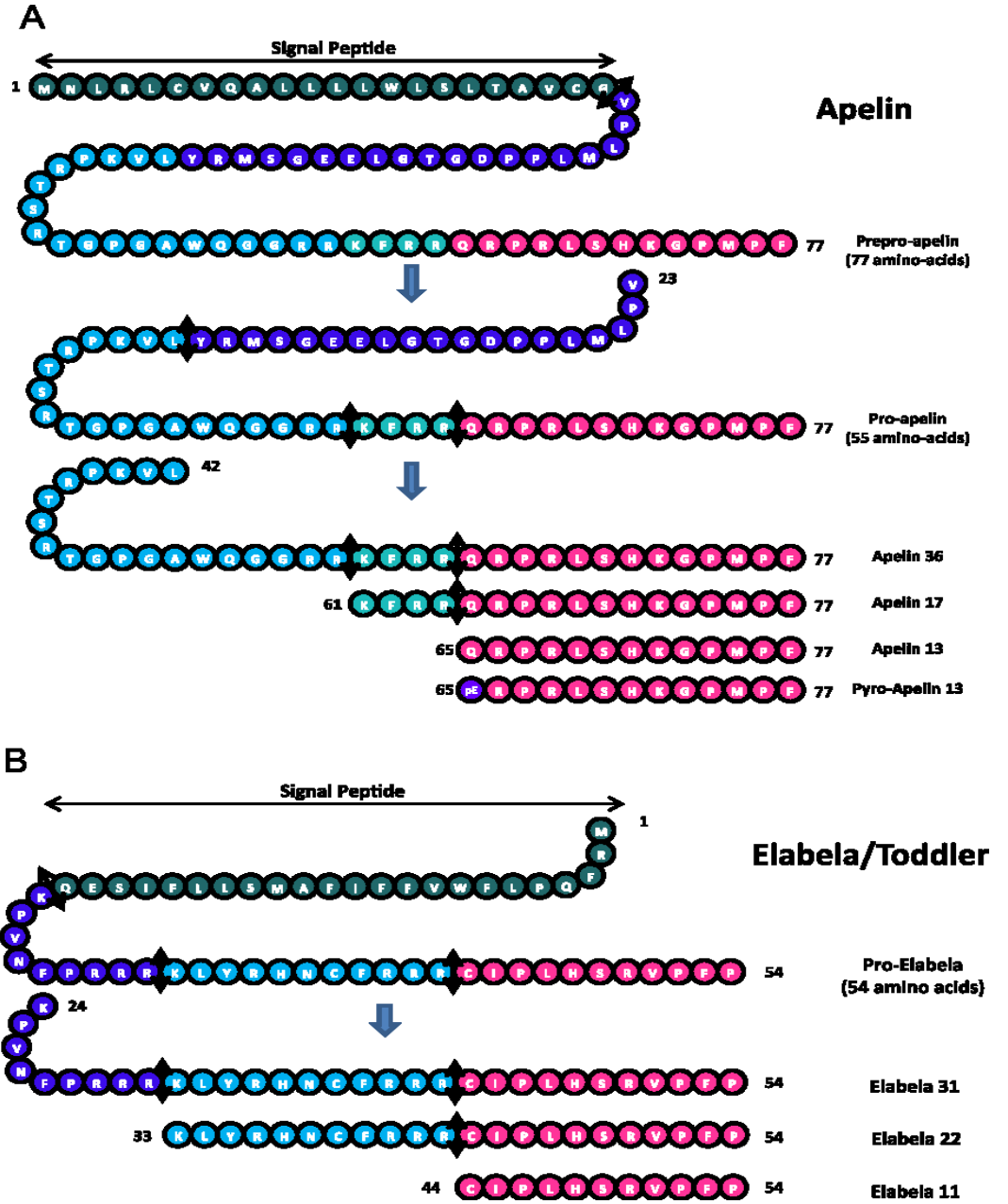


Şekil 2. 4. Naloksonun kimyasal formülü
(https://www.pharmawiki.ch/wiki/index.php?wiki=Oxycodon_und_Naloxon&search=Oxycodon)
(Mart-2021).

2.2. Apelin

2.2.1. Apelinin Genel Yapısı ve Tarihçesi

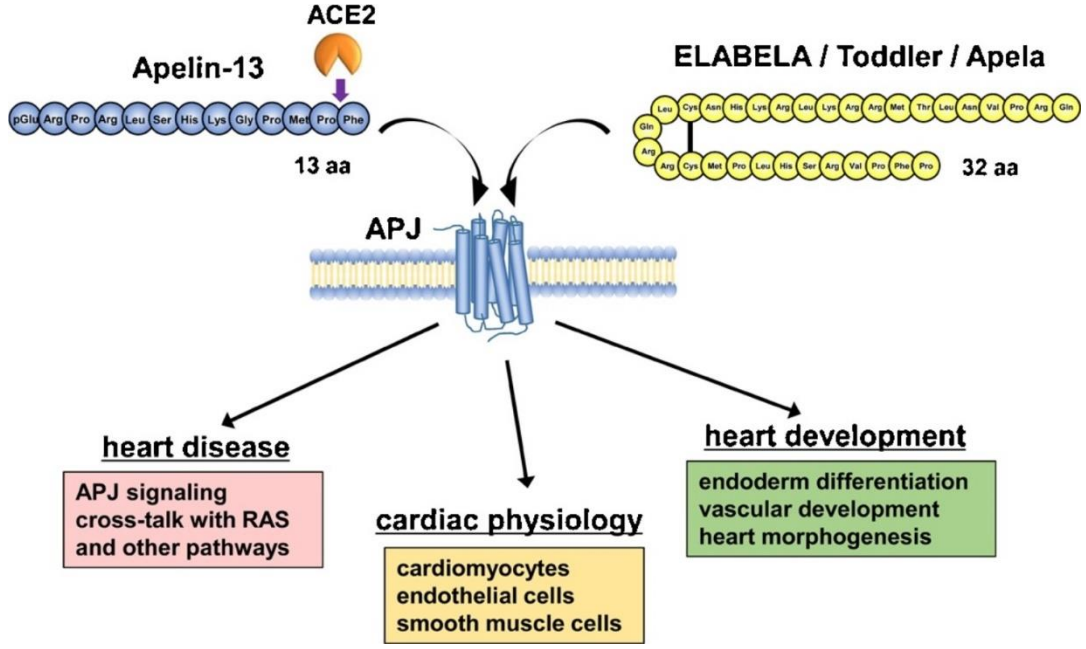
Tatemato ve ark. tarafından 1998 yılında sığır mide öz suyundan elde edilen apelin, adipoz dokuda yeni bir üye olarak tanımlanmıştır. İlk olarak, beyinde ve midede gösterilmiştir (Tatemoto ve ark. 1998). Olgun adipoz doku hücreleri tarafından da salgılanan apelin, bir adipokin olarak da kabul edilmektedir (Castan ve ark. 2011). Apelin, G protein kenetli reseptörüne (APJ) bağlanarak etki etmektedir (O'Dowd ve ark. 1993). Preproapelin, 77 aminoasite sahip, biyoaktif apelin öncülü olarak kabul edilmektedir. Proteaz enzimi ile proteolitik yıkım sayesinde farklı izoformlara dönüşmektedir. Apelinin izoformları: apelin-55 (apelin 23-77 dizisine karşılık gelen), apelin-36 (apelin 42-77 dizisine karşılık gelen), apelin-17 (apelin 61-77 dizisine karşılık gelen), apelin-13 (apelin 65-77 dizisine karşılık gelen) ve (Pry1)-apelin-13'dür (Tatemoto ve ark. 1998; Kawamata Y 2001; O'Carroll ve ark. 2013). Plazmada bulunan apelin izoformlarının apelin-13 ve apelin-17 ve apelin-13'e göre daha az oranda bulunan apelin-36 olduğu düşünülmektedir (Beltowski 2006).



Şekil 2. 5. Apelin ve elabela izoformları. (C. Chaves-Almagro ve ark. 2015).

2.2.2. Apelinerjik Sistem

Apelinerjik sistem, apelin reseptörü APJ ile peptit yapılı apelin ve apela (elabela) olarak tanımlanan iki liganttan oluşmaktadır (Shin ve ark. 2017). APJ, G-proteini kenetli bir reseptördür. Apelin, ilk keşfedilen endojen APJ ligandır. Elabela ise daha sonra keşfi gerçekleştirilerek sisteme eklenmiştir (Yang ve ark. 2015).



Şekil 2. 6. Apelinerjik sistem (Kuba ve ark. 2018).

2.2.3. Apelin Reseptörü

İlk olarak orfan bir reseptör olarak tanımlanan apelin reseptörü (APJ), Anjiyotensin II tip 1 reseptör geniyle yaklaşık dizilime sahip olarak keşfedilmiştir (O'Dowd ve ark. 1993). APJ daha sonra endojen ligandı olan apelinin bulunması ile orfan yapısından çıkarılmıştır (Tatemoto ve ark. 1998). APJ, G-protein eşlenik reseptörlerdendir (Cai ve ark. 2017). 380 aminoasitten ve 7 transmembran bölgeden oluşmaktadır (O'Dowd ve ark. 1993). APJ dokularda geniş bir ekspresyon göstermektedir. Kardiyomiyositlerde, vasküler endotelyal ve düz kas hücrelerinde APJ ekspresyonu görülmektedir (Kleinz ve Davenport, 2005). 11. kromozom üzerinde yer alan APLNR geni APJ'yi kodlamaktadır. (O'Dowd ve ark. 1993).

2.2.4. Apelinin Etkileri

2.2.4.1. Elektrolitler ve Sıvı Homeostazına Etkileri

Apelin ve APJ hipotalamusun PVN ve (supraoptik nükleus) SON nöronlarında yoğun olarak ifade edilmektedir (Brailoiu ve ark. 2002; Medhurst ve ark. 2003; Hus-Citharel ve ark. 2008). SON ve PVN'de apelin ile birlikte bulunan antidiüretik hormon çevre dokuları ve böbreği etkilemektedir. Santral olarak uygulanan apelinin antidiüretik hormon miktarını azalttığı ve Na^+ ve K^+ atılımını etkilemediği belirlenmiştir (De Mota ve ark. 2000). Başka bir çalışmada da fareler

susuz bırakılmasına rağmen intraseroventriküler yolla apelin enjeksiyonunun farelerde su alımına karşı fazla bir isteğe neden olduğunu ve böylece apelinin sıvı dengesini düzenleyici bir görevinin de olabileceği belirtilmiştir (Reaux ve ark. 2001). Roberts ve ekibinin yaptığı bir çalışmada ise apelinin antidiüretik etkisinin olduğu ve APJ eksik farelerde suları azaltıldığı halde idrar hacminin eksilmediği bildirilmiştir (Roberts ve ark. 2010). Bu veriler apelinin su tüketimini artırıcı etkisinin olduğunu göstermektedir.

2.2.4.2. Kardiyovasküler Sistem Etkileri

Apelinle ilgili en yoğun araştırmalar kalp ve dolaşım sistemi üzerinde gerçekleştirilmiştir (Falcao-Pires ve ark. 2005). İnsan damar endotelinde fazla miktarda APJ'nin bulunduğu gösterilmiştir (Medhurst ve ark. 2003). Yine insan ve sıçanların kalp ve damarlarında da bol miktarda APJ ve apelin varlığı görülmüştür (Hosoya ve ark. 2000; Devic ve ark. 1999; Saint-Geniez ve ark. 2003). Apelinin kan basıncı üzerinde düzenleyici etkisi olduğu yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (Szokodi ve ark., 2002). Ayrıca kalp krizi ve hipertansiyon gibi kardiyolojik rahatsızlıklarda koruyucu etkiye sahip olduğu belirlenmiştir (Dai ve ark. 2006; Koguchi ve ark. 2012; Pisarenko ve ark. 2014; Boal ve ark. 2015; Azizi ve ark. 2017).

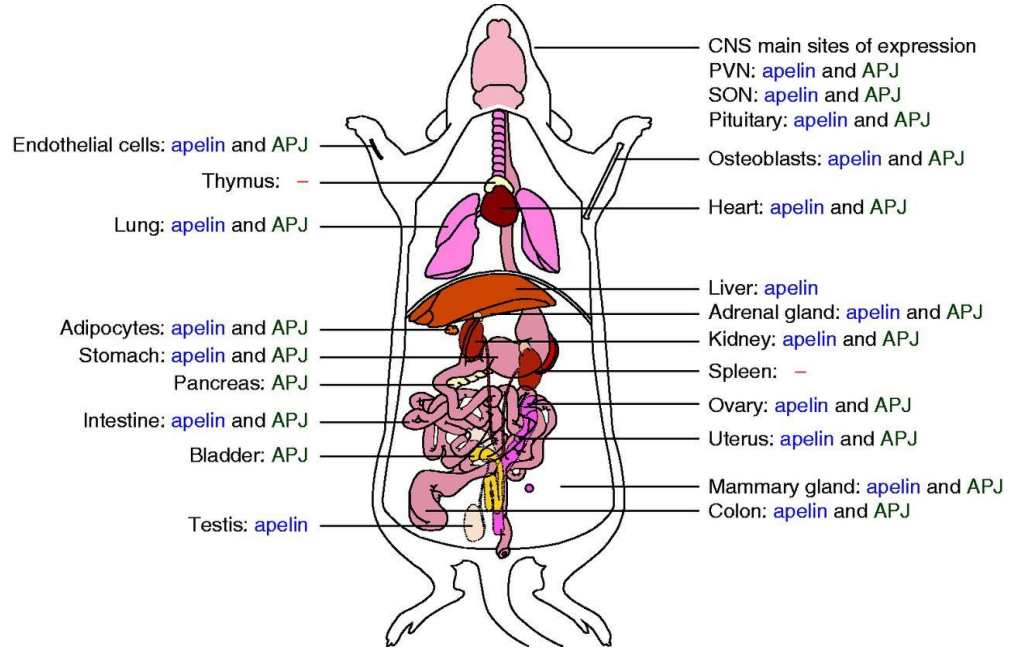
2.2.4.3. Sindirim Sistemi Etkileri

Apelinin ilk olarak sıçır midesinde bulunması, mide ve sindirim sistemi üzerine yapılan çalışmalarda pankreas, bağırsak, kolon, duodenum ve ileumda eksprese edildiğinin görülmesi apelinin sindirim sisteminde de aktif görevlerinin olabileceğini düşündürmüştür (Wang ve ark. 2004; Lambrecht ve ark. 2005; Winzell ve ark. 2005; Wang ve ark. 2009). Apelinin gastrointestinal sistemdeki etkileri genellikle insülin ile ilişkilidir (Winzell ve ark. 2005; Boucher ve ark. 2005).

2.2.4.4. Üreme Sistemi Etkileri

Apelinin oksitosin sekresyonunda rol oynayan SON ve PVN gibi bazı beyin bölgeleri ile beraber insan, sıçan ve farelerde testis ve ovaryumda da varlığı, üreme sistemi üzerinde bazı görevlerinin olabileceğini göstermiştir. Sıçan ovaryum dokusunda apelin varlığı ve aynı zamanda sıçan meme dokusunda gebelik ve laktasyon döneminde apelin yoğunluğunun arttığı görülmüştür (Habata ve ark. 1999). Sıçan over ve uterus dokusunda yapılan bir çalışmada ise bol miktarda APJ reseptörlerinin olduğu gözlenmiştir (Hosoya ve ark. 2000). İnsanlarda fetüs ve

plasentada apelinin yoğun bir şekilde bulunması, apelinin intrauterin büyümede bir görevinin olabileceğini düşündürmektedir (Malamitsi-Puchner ve ark. 2007).



Şekil 2. 7. Sıçanlarda Apelin ve APJ'nin Eksprese Olduğu Vücut Yapıları (Anne-Marie O'Carroll ve ark. 2013).

2.3. Hipokampus

Hipokampus denizatına benzetildiği için Yunanca hippocampus (hippos = at, kampos = deniz) isminden, farklı bir öngörü ile de Yunanca “Hippos” ve deniz canavarı anlamına gelen “kampos” sözcüklerinden türetilmiştir. Hipokampus, insanda yaklaşık olarak 5-8 cm uzunluğundadır ve arkikorteks olarak da isimlendirilir (D'Udine ve Gozzo 1983; İzci ve Erbaş 2015). Hipokampus kısa ve uzun süreli hafıza, kalıcı bilginin öğrenilmesi, yer-yön bulma, motor kontrol, duygusal davranışları düzenleme ve hipotalamik fonksiyonları ayarlamak gibi fizyolojik olaylarla ilişkilidir. Ayrıca birden fazla bilgiyi işleyip birleştirerek mekânsal hafızayı da kontrol edebilme özelliğine sahiptir. Hipokampus amigdala, hipotalamus gibi yapılarla bağlantı kurarak davranışsal hafızanın ortaya çıkmasında rol oynar (Guyton ve Hall 2013). Beynin bellek oluşumunu ve öğrenilen davranışları kontrol etmesini sağlayan en önemli bölge hipokampustur (Lagali ve ark. 2010; Malberg ve ark. 2000; Bannerman ve ark. 2004; Surget ve ark. 2011). Hipokampusun dorsal ve ventral bölgeleri bulunmaktadır. Dorsal alt alanın konumsal

öğrenme ve hafıza, ventral alt bölgenin ise kaygı gibi davranışlarda rol oynadığı ileri sürülmüştür.

Bağımlılık süreçlerinin apelinin ve APJ'nin hipokampustaki ekspresyonu üzerinde rol oynayıp oynadığı bilinmemektedir. Bu tez projesinde deneysel morfin bağımlılığı oluşturulmuş sıçanlarda hipokampus dokusundaki apelin ve APJ ifadesinin değişip değişmediği, nalokson uygulanmasıyla oluşturulan morfin yoksunluğu durumunda ise bu olası değişikliğin geri dönüp dönmediği araştırılmıştır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Hayvan Deneyleri

Projemiz 2020/005 etik numarası ile Necmettin Erbakan Üniversitesi Deneysel Tıp Uygulama ve Araştırma Merkezi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nda değerlendirilerek onaylanmıştır. Deneysel çalışmalar N.E.Ü. Deneysel Tıp Uygulama ve Araştırma Merkezi (KONÜDAM) ve N.E.Ü. Sinirbilim Uygulama ve Araştırma Merkezi (NESAM) laboratuvarlarında gerçekleştirilmiştir. Tez projemizde opioit madde bağımlılığı modeli olarak morfin bağımlılığı oluşturulmuştur. Deney gruplarında 300-350 gr yetişkin 36 adet erkek Wistar ırkı sıçan kullanılmıştır. Sıçanlar 22±1 oda sıcaklığında, 12 saat aydınlık 12 saat karanlık döngüde barındırılmıştır. Standart sıçan yemi ve musluk suyuyla beslenmişlerdir. Bağımlılık modeli oluşturulması amacıyla 7 gün boyunca her gün sabah 09.00-10.00 arasında morfin uygulamaları yapılmıştır. Sıçanlar uygulama yapılmadan yarım saat önce ortama alıştırmak için uygulama yerine getirilip bekletilmiştir. Çalışmamızda enjekte edilen morfin hidroklorür N.E.Ü. Tıp Fakültesi Hastanesi Başhekimliği'nden, temin edilmiştir. Mü opioit antagonist olarak kullanılan nalokson Merckgroup'dan (N7758) temin edilmiştir.

3.1.1. Morfin Bağımlılığı ve Morfin Çekilmesi Uygulama Aşamaları

Morfin bağımlılığı modelinin yer aldığı oldukça fazla araştırma bulunmaktadır. Bu araştırmaların birçoğunda 10 mg/kg morfin deri altı enjeksiyon günde bir veya günde iki defa uygulanarak, 6. ya da 7. veya 10. günde bağımlılığın oluştuğunu belirlemek amacı ile tek doz nalokson intraperitoneal olarak uygulanmaktadır.

Morfin yoksunluğu oluşturmak amacıyla nalokson uygulanması ile beraber arkasından sıçanların davranışları kaydedilmiş ve bulgular gözlemlenip skorlanmıştır. Yoksunluğun açık bir şekilde davranışsal olarak bulgular oluşturması, uyguladığımız bağımlılık modelinin doğru ve etkin olduğunun göstergesi olarak kabul edilmiştir (Akbarian ve ark. 2001; Ozawa ve ark. 2001; Chen ve ark. 2014). 1978'de Gellert ve Holtzman tarafından bulunan bu yöntem halen etkin bir model olarak kullanılmaktadır. Akriba olmamak kaydı ile rastgele seçilen sıçanlar morfin, nalokson ve kontrol olmak üzere üç gruba ayrılmıştır. Morfin ve nalokson uygulanan gruplarda bulunan sıçanlara 10 mg/kg/gün dozunda 7 gün süresince morfin deri altı

yolla uygulanmıştır. Morfin bağımlılığının olup olmadığı, 7. gün intraperitoneal 1 mg/kg doz nalokson uygulanarak yoksunluk bulgularının görülmesi ile belirlenmiştir.

1. Kontrol grubu (n=12): Sıçanlara her gün %0,9'luk NaCl 10 mg/kg/gün dozunda 7 gün süresince deri altı yolla uygulanmıştır. 7. gün bir doz daha intraperitoneal %0,9'luk NaCl enjeksiyonu yapılmıştır. Sıçanlar davranışsal olarak gözlemlenmiştir.

2. Morfin bağımlılığı grubu (n=12): Sıçanlara 10 mg/kg/gün dozunda 7 gün süresince morfin deri altı yolla uygulanmıştır. 7. gün intraperitoneal olarak tek doz %0,9'luk NaCl uygulanmıştır. Bağımlılık grubundaki hayvanlar da davranışsal olarak gözlemlenmiştir.

3. Morfin bağımlılığı+nalokson grubu (n=12): Sıçanlara 10 mg/kg/gün dozunda 7 gün süresince morfin deri altı yolla uygulanmıştır. Morfin çekilme bulgularının belirlenmesi amacı ile 7. gün intraperitoneal olarak 1 mg/kg doz nalokson uygulanmıştır. Yoksunluk bulguları davranışsal olarak gözlemlenmiştir.

Sıçanlar nalokson ve NaCl uygulamalarından 1,5 saat önce ve uygulama yapıldıktan 0,5 saat sonra tartılmış ve % olarak ağırlık değişim oranları hesaplanmıştır.

Sıçanlar uygulamaların hemen akabinde 25X65 cm ebatlarında şeffaf gözlem kafeslerine konularak davranışları izlenmiştir. İşlemlerin bitiminden sonra 0,5 saat boyunca Gellert ve Holtzman skalası dikkate alınarak morfin çekilme davranışları skorlanmıştır. Tüm sıçanlar için sonuçta çekilme bulguları ve morfin çekilme skoru belirlenmiştir. Morfin bağımlılığı ve çekilme bulgularının model alındığı birçok araştırmada aynı yöntemler kullanılmıştır. (Almela ve ark. 2012; Pintér-Kübler ve ark. 2013; Chen ve ark. 2014; Kaka ve ark. 2014; Raghav ve ark. 2018).

Tablo 3. 1. Morfin çekilme bulguları ve değerlendirme skor tablosu.

DAVRANIŞ VEYA BULGU	SKOR
Islak köpek silkelmesi 1-2 defa	2
Islak köpek silkelmesi 3-4 defa	4
Şahlanma sayısı	1
Her bir defekasyon (diyare) sayısı	2
Anormal postür sayısı	3
Yuvarlanma hareketi sayısı	2
Tıksırma sayısı	1
Gözlerini kısma sayısı	1
Diş Çıtırdatma Sayısı	2
Sıçrama	2
Her bir %1'lik vücut ağırlık kaybı	1

3.1.2. Deneyin Sonlandırılması ve Dokuların Toplanması

Hayvan davranışları yarım saat süre ile takip edilip skora yapıldıktan hemen sonra tüm gruptaki hayvanların beyinleri hızla çıkartılmıştır. Hipokampus dokuları diseke edilerek kriyo tüplere konmuş ve sıvı azotta hemen dondurularak analizler yapılmak için -80 C'de muhafaza edilmiştir.

3.1.3. Hipokampus Örneklerinden Total RNA İzolasyonu

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

sıcaklığında kurutulduktan sonra 50 µl nükleaz free su ile çözündürülmüştür. Elde edilen RNA örnekleri kullanılıncaya kadar -80 °C’de saklanmıştır.

3.1.4. Total RNA Örneklerinin Kalite Kontrolü

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

3.1.5. Total RNA Örneklerinin gDNA Kontaminasyonunun Temizlenmesi

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

3.1.6. Primer Diyazını

Kantitatif gerçek zamanlı PZR (qRT-PZR) analizinde kullanılan aday ve referans genlerine ait primerler, IDT PrimerQuest (<https://eu.idtdna.com/site>) programı kullanılarak tasarlanmış veya literatürden alınmıştır (Tablo 1).

Tablo 3. 2. qPZR analizlerinde kullanılan genlerin primer dizileri

Gen	Primer dizileri (5'->3')	Uzunluk (bç)
Apelin	TGCTCTGGCTCTCCTTGA AAAGGCATGGGTCCCTTATG	166
APJ	TCATTGCCCAAACCATCGCT CCAGGTGGTAAGGCATCCAG	132
PGK1	ATGCAAAGACTGGCCAAGCTAC AGCCACAGCCTCAGCATATTTTC	104
CycA	TATCTGCACTGCCAAGACTGAGTG	126

*Bu çalışmada dizayn edilen primerleri için ilgili Gen Bankası erişim kodu.

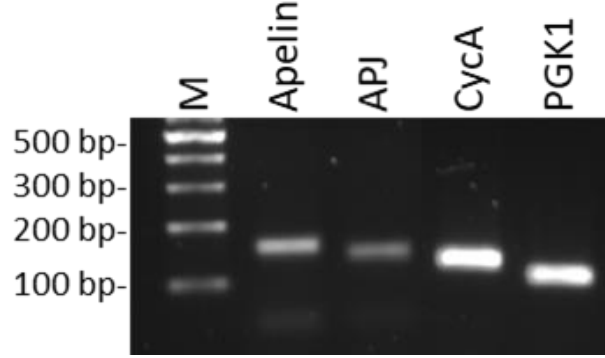
3.1.7. Reverse Transkriptaz (RT) Reaksiyonu

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

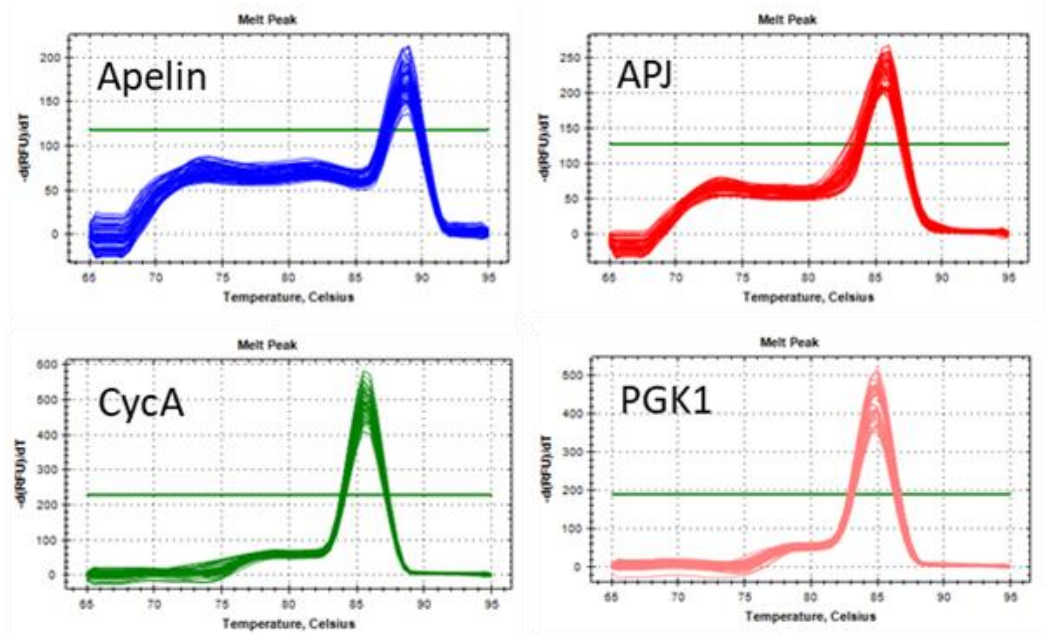
3.1.8. Gerçek Zamanlı Kantitatif Polimeraz Zincir Reaksiyonu (qRT-PZR)

Hedef ve referans genlerin ekspresyon kantitasyon analizi, gerçek zamanlı PZR cihazı (Bio-Rad CFX Connect Gerçek Zamanlı PZR Sistemi) kullanılarak yapılmıştır. Reaksiyon için çift iplikli DNA'ya bağlanan bir boya olan SyberGreen kullanılmıştır. Kısaca, 2X SyberGreen master mskten 10 µl, forward primerden 5 pmol, reverse primerden 5 pmol (Tablo 1), 2 µl cDNA ve toplam hacim 20 µl olacak şekilde ddH₂O ile tamamlanarak polimeraz zincir reaksiyonu gerçekleştirilmiştir. Reaksiyonun ısı profili, +95 °C 10 dk, 40 döngü (95 °C 30 sn, 60 °C 30 sn, 72 °C 30 sn) olacak şekilde ayarlanmıştır. Ayrıca 95 °C 1 dakika ısıtılıp, 55 °C'ye düşürülen ısı 95 °C'ye kadar tekrar kademeli olarak arttırılarak melting curve (erime eğrisi) analizi gerçekleştirilmiştir. Gerçek zamanlı PZR cihazından elde edilen Ct (eşik döngüsü) değerleri kayıt edilmiştir. Gerçek zamanlı PZR'den elde edilen ürünlerin

doğru ürün olduğunu teyit etmek amacıyla ürünler %2'lik agaroz jelde 120 voltta 30 dk. yürütülmüş ve gözlenmiştir (Şekil 2). Melting curve analizlerinde de tüm PZR ürünlerinin spesifik olduğu ve herhangi bir diğer genom bölgesinin yükseltgenmediği tespit edilmiştir (Şekil 3).



Şekil 3. 1. Çalışmada kullanılan genlere ait qRT-PZR ürünlerinin jel görüntüsü. M; 100 bp DNA markörü.



Şekil 3. 2. Çalışmada kullanılan genlere ait *melting curve* analiz eğrileri.

3.2. İstatistiksel Yöntem

Davranış testlerine ait verilerin elde edilmesinden sonra bilgisayar ortamında SPSS 21 (IBM Corp. Released 2017. IBM SPSS Statistics for Windows, Version 21.0.) paket programına aktarılarak işlenmiştir. Bulgular ortalama \pm standart hata

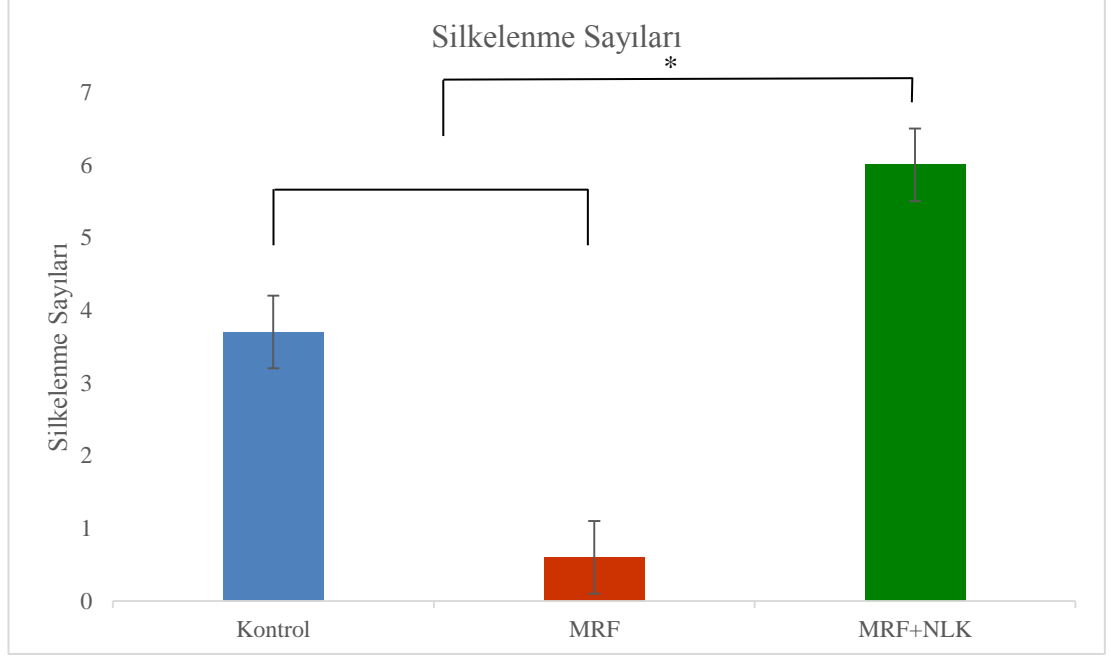
olarak ifade edilmiştir. Verilere ait tanımlayıcı değerler “descriptive analiz” kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Çalışmada oluşturulmuş olan kontrol, morfin ve morfin+naloksan grupları, Mann-Whitney U ile değerlendirilmiştir. Varyansların homojenliği değerlendirilerek homojen olmayan sıçrama, süslenme, defekasyon frekansı, yuvarlanma, gözlerini kısma, diş çıtırdatma, kilo kaybı değerleri için literatürde önerilen Kruskal-Wallis kullanılmıştır.

Gen ekspresyon verilerinin analizinde öncelikle çalışmaya konu olan bütün genlerin ekspresyon düzeylerini ifade eden Ct değerleri PGK1 ve CycA referans genlerin Ct değerleri ile normalize edilerek $2(-\Delta Ct)$ değerleri tespit edilmiştir. Kontrol ve deneme grupları arasında gen ekspresyonu farklılıkları SPSS Paket programı kullanılarak tek yönlü varyans analizi ile değerlendirilmiş gruplar arasında farklar Asgari Önemli Fark (LSD) yöntemi kullanılarak karşılaştırılmıştır.

4. BULGULAR

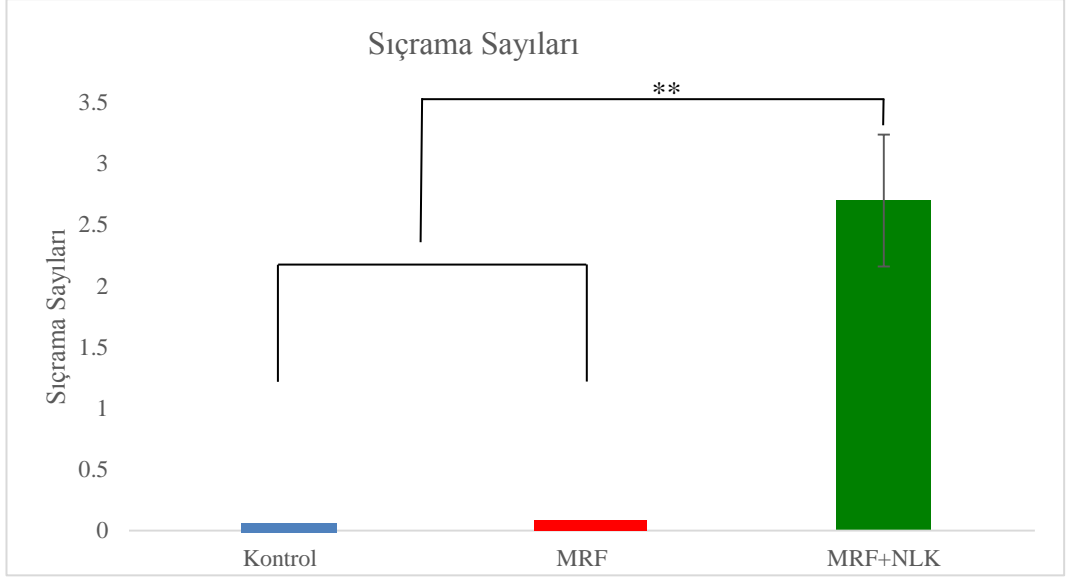
4.1. Davranış Bulguları

Tüm gruplarda son enjeksiyonlardan sonraki 0,5 saat içinde hayvanların davranış özellikleri gözlemlendi. Yoksunluk parametreleri manuel olarak kaydedildi. Bulgular $AO \pm SH$ değerleri olarak hesaplandı.



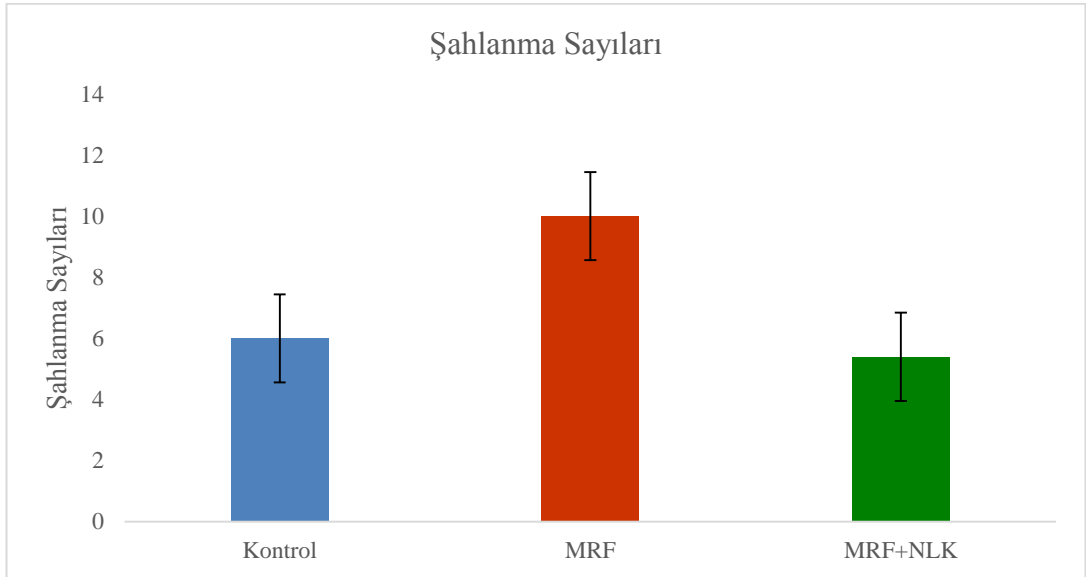
Resim 4. 1. Kontrol, Morfin (MRF) ve Morfin+Nalokson (MRF+NLK) ve gruplarındaki silkelene sayıları. * $p < 0,05$.

Sikelene davranışı değerlendirildiğinde, MRF+NLK grubu kontrol ve morfin gruplarıyla karşılaştırıldığında anlamlı bir azalma ortaya çıkmıştır ($p < 0,05$).



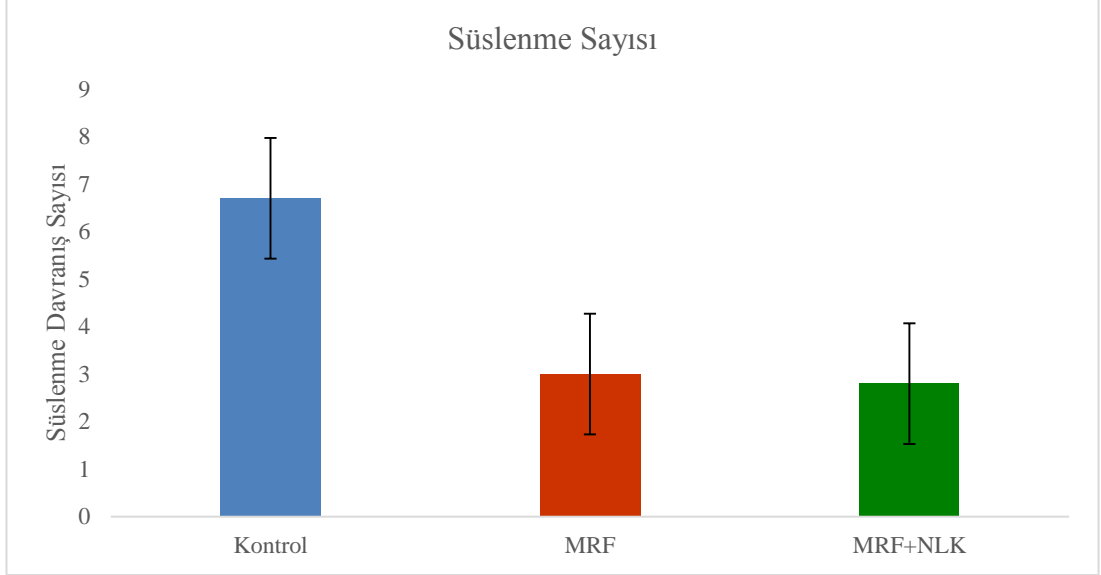
Resim 4. 2. Kontrol, Morfin (MRF) ve Morfin+Nalokson (MRF+NLK) grubundaki sıçrama sayıları. **p<0,01

Sıçrama davranışı değerlendirildiğinde kontrol ve MRF gruplarıyla karşılaştırıldığında MRF+NLK grubunda istatistiksel olarak belirgin bir artış gözlenmiştir (p<0,01).



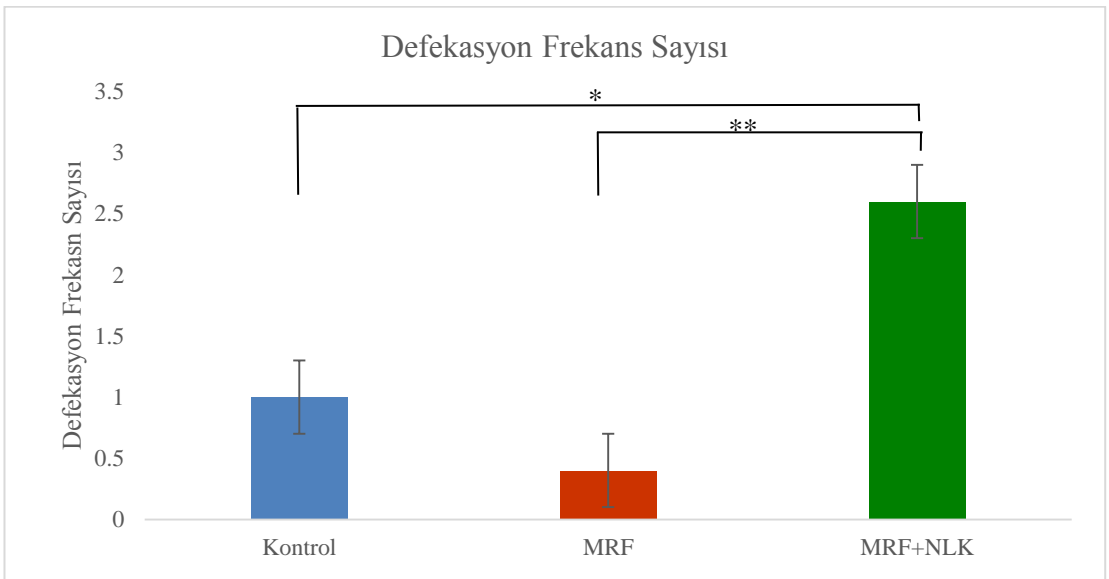
Resim 4. 3. Kontrol, Morfin (MRF) ve Morfin+Nalokson (MRF+NLK) grularındaki şahlanma sayıları.

Şahlanma davranışları değerlendirildiğinde, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık ortaya çıkmadı ($p>0,05$, Resim 4.3.).



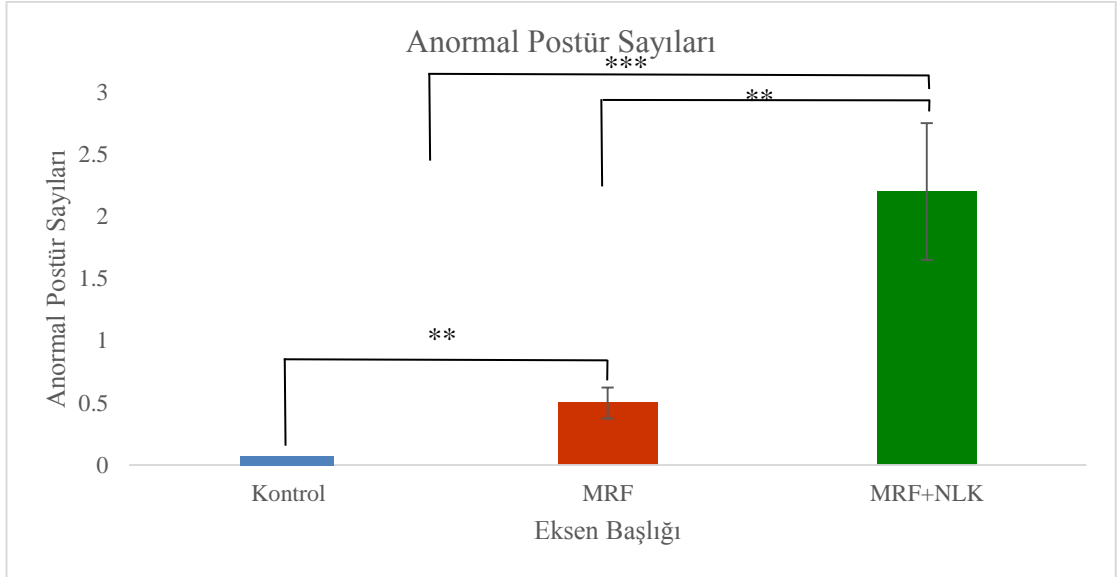
Resim 4. 4. Kontrol, Morfin (MRF) ve Morfin+Nalokson (MRF+NLK) grubundaki süslenme sayıları.

Süslenme davranışları değerlendirildiğinde ise gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmedi ($p>0,05$, Resim 4.4.).



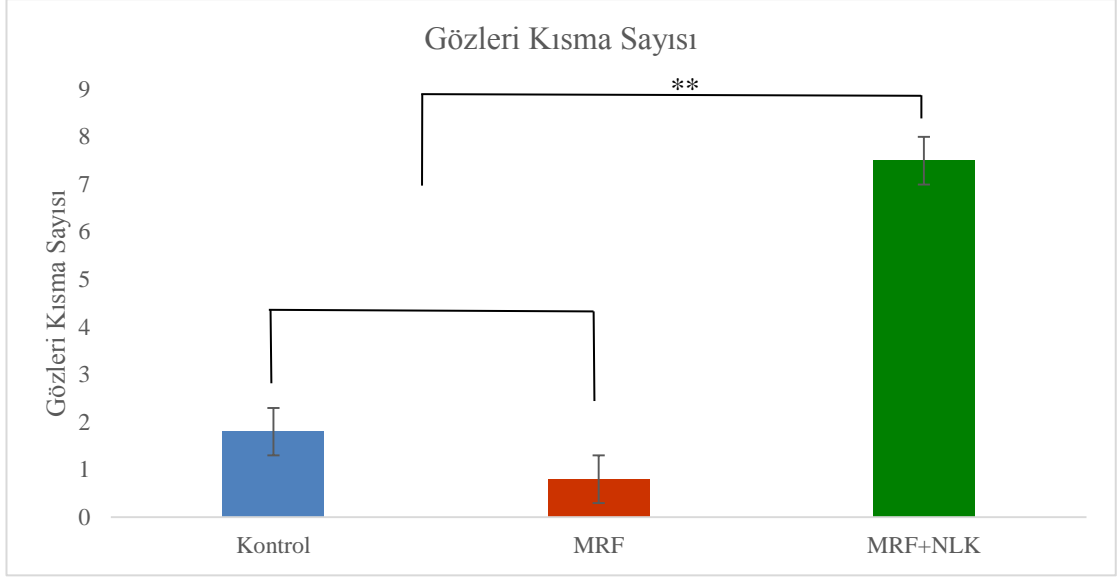
Resim 4. 5. Kontrol, Morfin (MRF) ve Morfin+Nalokson (MRF+NLK) grubundaki defekasyon frekans sayıları. * $p<0,05$, ** $p<0,01$

Defekasyon frekansı değerlendirildiğinde kontrol ve MRF grupları arasında anlamlı farklılık bulunmazken, her iki gruba MRF+NLK grubu karşılaştırıldığında anlamlı fark bulunmuştur ($p<0,05$ ve $p<0,01$, sırasıyla).



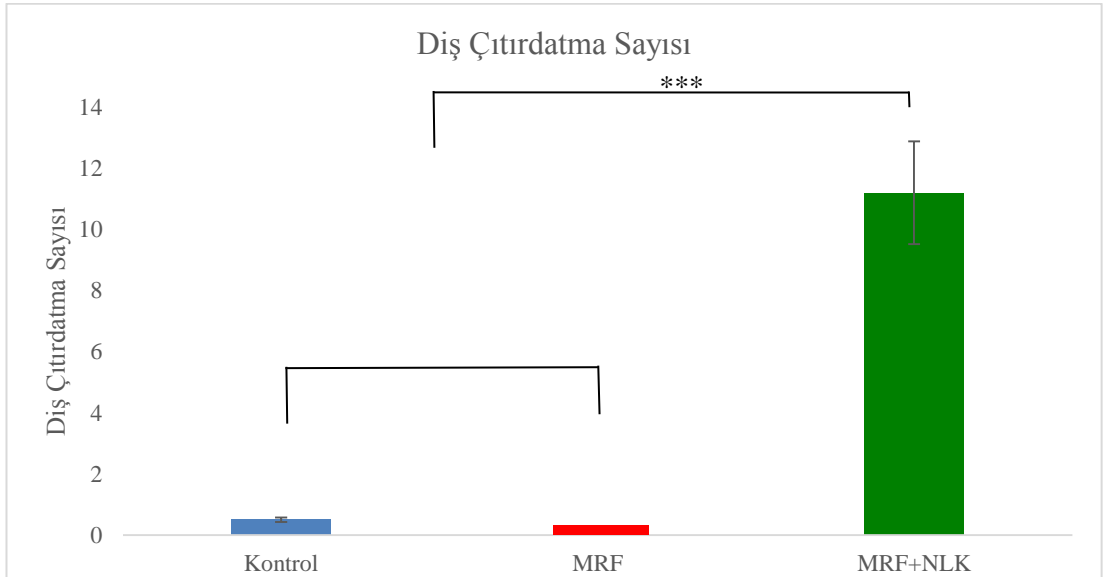
Resim 4. 6. Kontrol, Morfin (MRF) ve Morfin+Nalokson (MRF+NLK) grubundaki anormal postür sayıları. * $p<0,01$, ** $p<0,001$

Anormal postür sayısı değerlendirildiğinde, tüm gruplar arasında anlamlı farklılıklar bulunmuştur (kontrol grubu, MRF ve MRF+NLK arasında $p<0,01$, kontrol grubu ile MRF+NLK $p<0,001$).



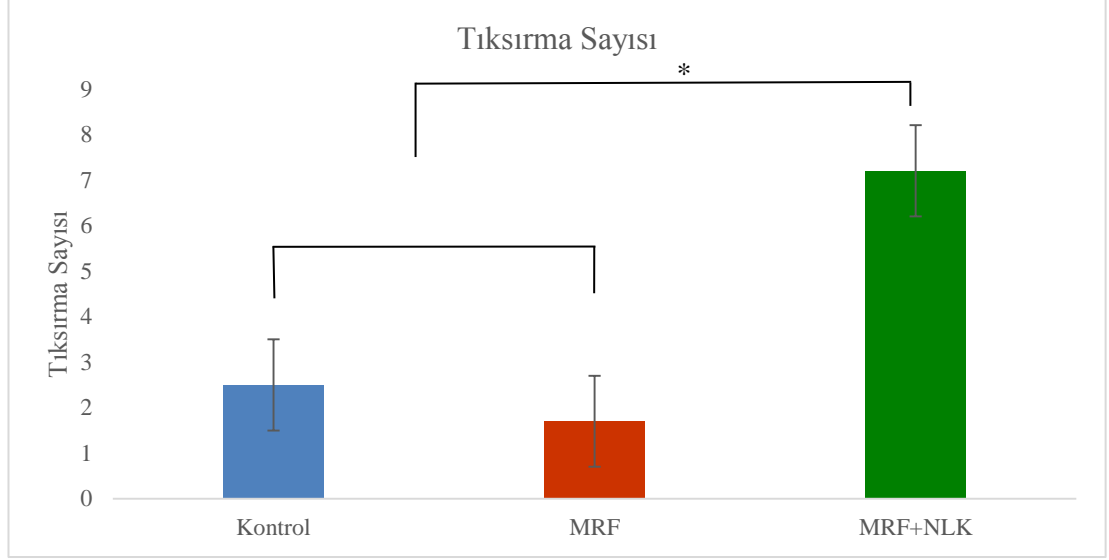
Resim 4. 7. Kontrol, Morfin (MRF) ve Morfin+Nalokson (MRF+NLK) grubundaki gözleri kısma sayıları. ** $p < 0,01$

Göz kısma hareketlerinde kontrol ve MRF grupları arasında anlamlı fark bulunmazken ($p > 0,05$) her iki grup ile MRF+NLK deney grubu arasında anlamlı fark gözlenmiştir ($p < 0,01$).



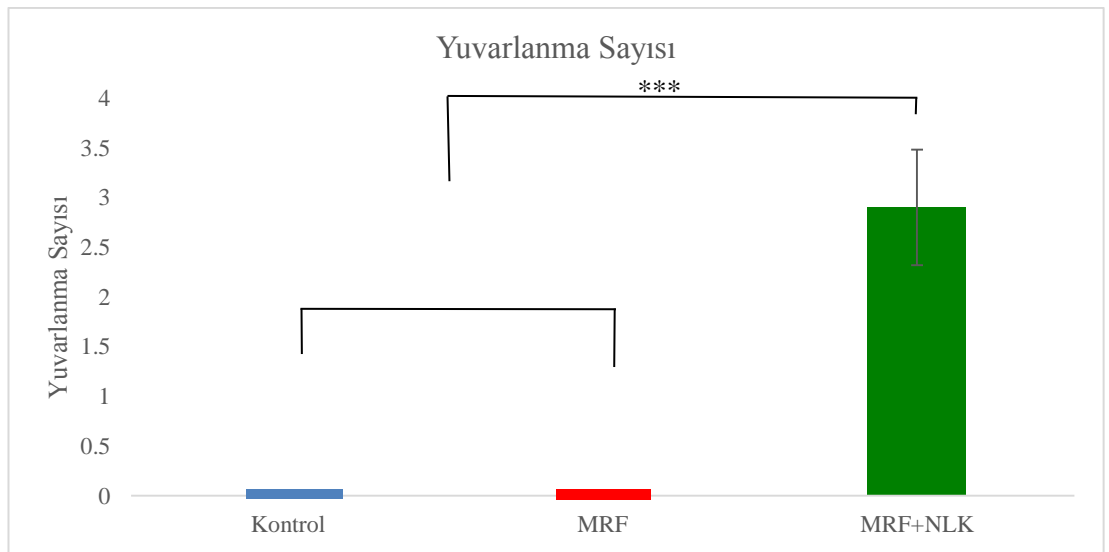
Resim 4. 8. Kontrol, Morfin (MRF) ve Morfin+Nalokson (MRF+NLK) grubundaki diş çıtırdatma sayıları. *** $p < 0,001$

Diş çıtırdatma sayıları karşılaştırıldığında MRF+NLK deney grubu ile hem kontrol hem de MRF deney grupları arasında anlamlı fark bulunmuştur ($p<0,001$).



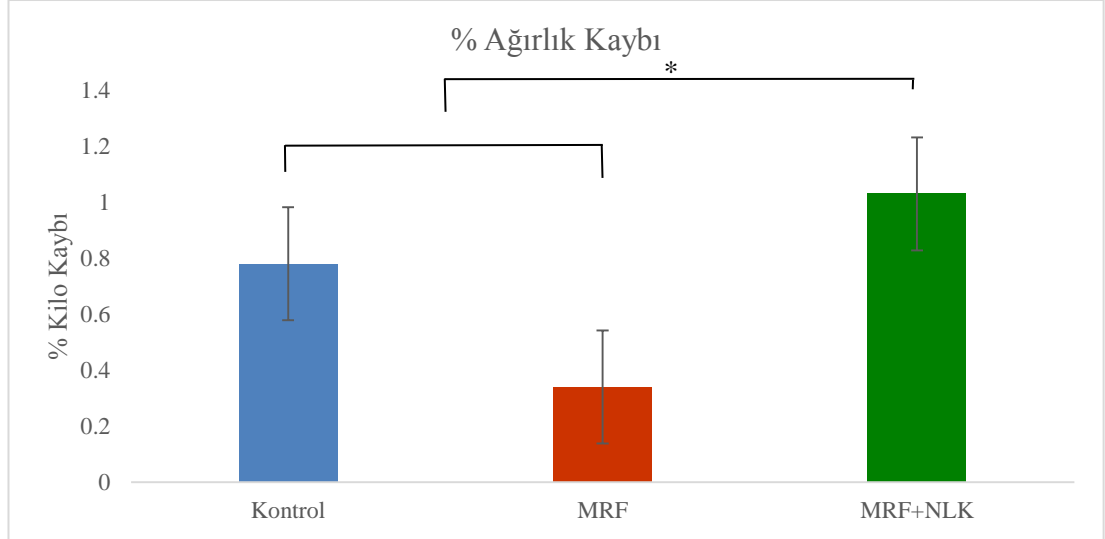
Resim 4. 9. Kontrol, Morfin (MRF) ve Morfin+Nalokson (MRF+NLK) grubundaki tıksırma sayıları. * $p<0,05$

Tıksırma sayısı değerlendirildiğinde, MRF ve kontrol grubu arasında anlamlı fark bulunmazken ($p>0,05$), kontrol ve MRF ile karşılaştırıldığında MRF+NLK grubunda anlamlı bir artış ortaya çıkmıştır ($p<0,05$).



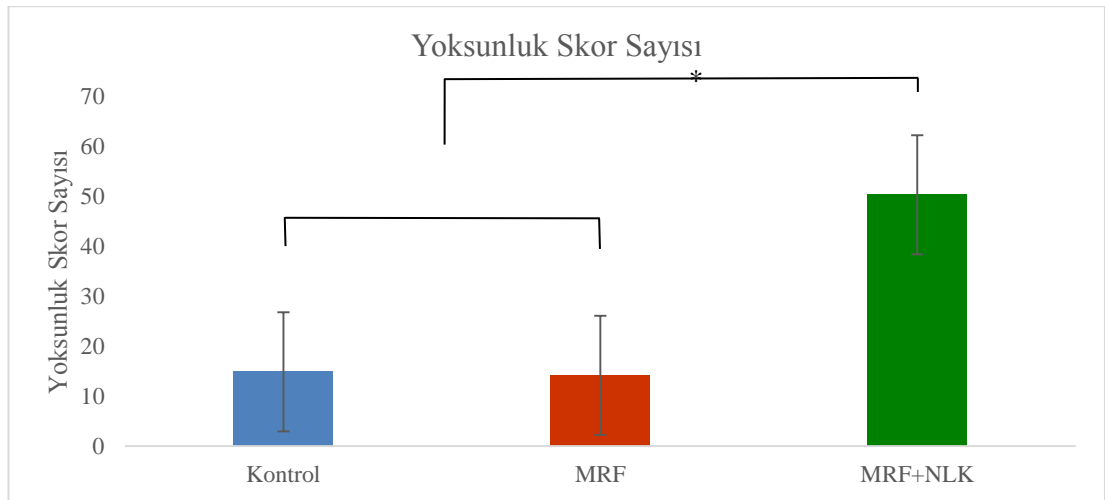
Resim 4. 10. Kontrol, Morfin (MRF) ve Morfin+Nalokson (MRF+NLK) grubundaki yuvarlanma sayıları. *** $p<0,001$

Yuvarlanma sayıları değerlendirildiğinde, MRF ve kontrol grubu arasında anlamlı fark bulunmazken ($p>0,05$), her iki grup ile karşılaştırıldığında MRF+NLK grubunda anlamlı bir artış gözlenmiştir ($p<0,001$).



Resim 4. 11. Kontrol, Morfin (MRF) ve Morfin+Nalokson (MRF+NLK) grubundaki % ağırlık kaybı sayıları.

Yüzde ağırlık kaybı değerlendirildiğinde, MRF ve kontrol grubu arasında anlamlı fark bulunmazken ($p>0,05$), her iki grup ile MRF+NLK arasında anlamlı fark bulunmuştur ($p<0,05$).



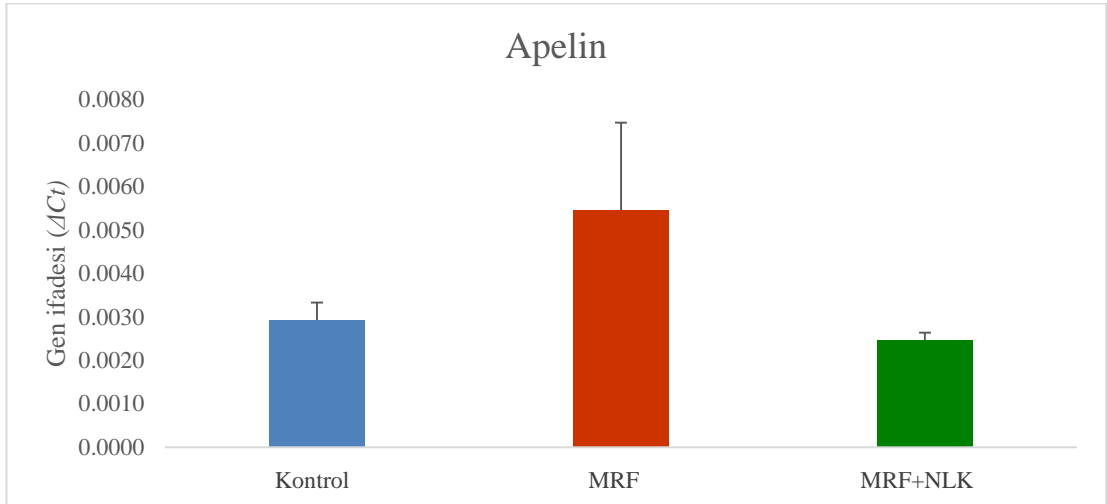
Resim 4. 12. Kontrol, Morfin (MRF) ve Morfin+Nalokson (MRF+NLK) grubundaki yoksunluk skor sayıları. * $p<0,001$

Yoksunluk skor sayıları değerlendirildiğinde MRF ve kontrol grubu arasında anlamlı fark bulunmazken ($p>0,05$), her iki grup ile karşılaştırıldığında MRF+NLK grubunda anlamlı bir artış belirlenmiştir ($p<0,001$).

Tablo 4. 1. Deneyler sonu yoksunluk bulguları (Ortalama \pm Standart hata değerleri).

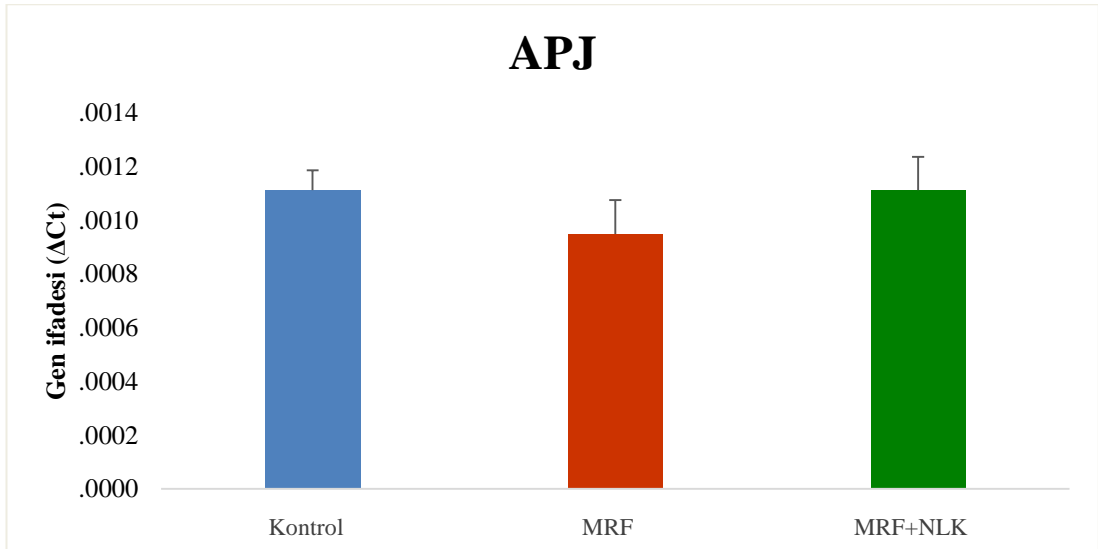
Davranış Türü	Kontrol	MRF	MRF+NLK
Silkelenme	3,70 \pm 1,53	0,60 \pm 0,27	6,00 \pm 2,79
Sıçrama	0,00 \pm 0,00	0,00 \pm 0,00	2,70 \pm 0,95
Şahlanma	6,00 \pm 1,01	10,00 \pm 2,61	5,40 \pm 0,63
Süslenme	6,30 \pm 1,08	3,00 \pm 1,14	2,80 \pm 0,63
Defekasyon Frk	1,00 \pm 0,33	0,40 \pm 0,22	2,60 \pm 0,62
Anormal Postür	0,00 \pm 0,00	0,50 \pm 0,22	2,20 \pm 0,25
Yuvarlanma	0,00 \pm 0,00	0,00 \pm 0,00	2,90 \pm 1,28
Göz Kısmı	1,80 \pm 5,33	0,80 \pm 0,80	7,50 \pm 1,06
Diş Çıtırdatma	0,50 \pm 0,26	0,00 \pm 0,00	11,20 \pm 2,51
Tıksırma	2,50 \pm 1,96	1,70 \pm 1,49	7,20 \pm 3,60
Yüzde Kilo Kaybı	0,78 \pm 0,22	0,34 \pm 0,09	1,03 \pm 0,21
Yoksunluk	14,90 \pm 2,38	14,20 \pm 3,43	50,30 \pm 5,35

4.2. Moleküler Bulgular



Resim 4. 13. Kontrol, Morfin (MRF) ve Morfin+Nalokson (MRF+NLK) grubundaki Apelin gen ifade düzeyi.

Apelin gen ifade düzeyleri karşılaştırıldığında anlamlı bir farklılık olmasa da, morfin grubu değerlerinin daha yüksek olduğu ortaya çıkmıştır ($p>,05$).



Resim 4. 14. Kontrol, Morfin (MRF) ve Morfin+Nalokson (MRF+NLK) grubundaki APJ reseptörü gen ifade düzeyi.

Hipokampal APJ ifade düzeyleri gruplar arasında paralel seyretmiştir.

5. TARTIŞMA

Bu çalışmada bir haftalık morfin uygulanarak oluşturulan opioit bağımlılığı ve nalokson enjeksiyonu ile oluşturulan morfin yoksunluk durumunun, sıçan hipokampus dokusundaki apelin ve apelin reseptörünün gen ekspresyon düzeyleri üzerindeki etkisi araştırılmıştır.

Opioit bağımlılığıyla ilgili birçok bilimsel araştırma bulgusu olmasına rağmen, fizyopatolojik süreçler hakkında halen bilinmeyen ve araştırılması gereken alanlar bulunmaktadır. Sinir sisteminde yeni nöron oluşumu ve sinaptogenez gelişimi olarak ifade edilebilen nörogenez, birçok nöropsikiyatrik patolojide bozulmaktadır. Bağımlılık da bu patolojiler arasında yer almaktadır.

Bağımlılığın sebebini araştırmayı amaçlayan çalışmalar son dönemde yoğun olarak davranışsal süreçleri düzenleyen limbik alanlar üzerinde yoğunlaşmıştır. Bu çalışmaların fazlalaşması ile beraber araştırmacılar bağımlılığın genetik, moleküler ve sitolojik yapılarını daha net olarak çözmeye başlamışlardır.

Analjezik olarak sıklıkla kullanılan morfin tolerans ve hiperaljezi gibi durumlara neden olmaktadır. Bu tarz yan etkileri ortadan kaldırmak için birçok çalışma yapılmıştır (Kalso ve ark. 2004). Tedavide kullanılan ve bizim çalışmamızda da yoksunluk sendromu oluşturmak amacı ile kullandığımız nalokson ve türevleri olan bazı ilaçlar metadon, naltrekson, buprenorfin ve LAAM'dır (Uğurlu ve ark. 2012).

Apelin sinir sistemindeki bazı bölgelerde sentezlenen fizyolojik etkilere sahip olan yeni bir peptittir. İzole kortikal nöron kültürlerinde oksidatif stres ve apoptoza karşı apelinin nöron koruyucu etkilere sahip olduğu gösterilmiştir (Yan ve ark. 2015; Yang ve ark. 2016). Deneysel travmatik beyin hasarına karşı koruyucu etkisi belirlenmiştir (Bao ve ark. 2015). Antikonvülzan ve nöroprotektif etkisi epilepsi modelinde de gösterilmiştir (Kalantaripour ve ark. 2016). İntrahipokampal ve santral apelin enjeksiyonunun belirgin antidepresan etki gösterdiği ortaya konmuştur (Li ve ark. 2016; Xiao ve ark. 2018). Bu etki santral apelin reseptör antagonist uygulanmasıyla geri dönmektedir (Xiao ve ark. 2018). Apelinin, beta amiloit peptidinin intrahipokampal infüzyonuyla indüklenmiş deneysel Alzheimer hastalığı modelinde belirgin nöroprotektif etkiler sergilediği ve spasyal belleği düzelttiği ortaya konmuştur (Aminyavari ve ark. 2019). Bu etkisiyle de Alzheimer tedavisi için

aday bir molekül olabileceği ileri sürülmüştür. Apelin hipokampusta travmatik beyin hasarı modelinde Bcl2 düzeyini (Bao ve ark. 2015), stresle indüklenmiş depresyon modelinde BDNF düzeyini belirgin şekilde artırmıştır (Dai ve ark. 2018; Shen ve ark. 2019).

Apelin ve reseptörü APJ'nin opioit bağımlılığında rolü hakkında bir araştırma bulgusu bulunmamaktadır. Araştırmamızda morfin bağımlılığı oluşturulmuş sıçanlarda hipokampusta apelin-APJ sistem gen ekspresyon seviyesinin değişip değişmediği araştırılmıştır.

Apelin-APJ sisteminin opioit aracılı etkiler de sergileyebileceği özellikle kardiyovasküler sistemde ortaya konmuştur. Bu etkiler büyük ölçüde kappa opioit reseptörleri içermektedir (Rostamzadeh 2018; Yeganeh-Hajahmadi 2018). Apelinin belirgin olarak analjezik etki gösterdiği (Lv 2012; Turtay 2015) bilinmektedir. Bu etkinin APJ aracılı olmasının yanı sıra, mü opioit reseptör antagonistler tarafından geri döndürülmesi apelin-APJ sinyalleşmesinin mü reseptör etkileşimini de içerebileceğini düşündürmektedir (Xu 2009). Bununla birlikte opioit bağımlılığında apelinin etkilerinin belirlendiği herhangi bir araştırma bulgusu yoktur. Morfin bağımlılığı oluşturulmuş sıçanlarda, apelin ve APJ gen ekspresyon düzeyinin bağımlılık ilişkili limbik bölgelerde bu proje kapsamında ilk defa irdelenmesi bu projenin temel özgünlüğünü oluşturmaktadır.

Projenin deneysel aşamalarında yetişkin dişi sıçanlarda morfin bağımlılığı oluşturmuştur. Deneylerin sonunda hayvanların beyin dokuları çıkarılarak hipokampusta apelin ve APJ gen ekspresyon düzeyleri analiz edilmiştir.

Çalışmamızda kontrol grubuyla karşılaştırıldığında morfin grubunda apelinin gen ifadesinde bir artış gözlenmiştir. Her ne kadar istatistiksel olarak anlamlı olmasa da ortaya çıkan bu artış, morfinin direk etkisi sonucu meydana gelebilir. Diğer bir öngörü ise hipokampusta morfin bağımlılığının oluşturduğu nörojenез üzerinde ve/veya nöronlar üzerindeki olumsuz süreçlerin kompanze edilebilmesi amacıyla nöroprotektif özelliğe sahip olan apelinin sentezinin sekonder olarak artabileceğidir.

APJ ifade düzeyinde minimal bir azalmanın morfin uygulanan hayvanlarda oluşması da aynı grupta artan apelin ekspresyonu nedeniyle APJ'nin *down* regülasyona uğramasından kaynaklanabilir. Sonuçta morfin bağımlılığı hipokampusta apelin sentezinde az da olsa bir artışa neden olmaktadır.

Nalokson uygulamalarının morfin grubundaki apelin ifade düzeylerini kontrol grubuna yakın bir değere düşürmesi, kısa sürede mü reseptör antagonistik etkinin ortaya çıktığını göstermektedir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu tez çalışmasında morfin bağımlılığı modeli oluşturulan sıçanlarda hipokampusta apelin gen ekspresyon düzeylerine ilk defa araştırılmıştır ve morfin uygulanmasının hipokampal apelin gen ekspresyonunun az da olsa artırdığı belirlenmiştir.

Bu bulgular, opioit bağımlılığının hipokampustaki nöronal olumsuz etkilerinin azaltılmasında apelinin rol oynayabileceğini düşündürmektedir. Bu konunun aydınlatılabilmesi için ileri düzeyde araştırmalara ihtiyaç bulunmaktadır.

7. KAYNAKLAR

- Akbarian S, Bates B, Liu RJ, Skirboll SL, Pejchal T, Coppola V, Sun LD, Fan G, Kucera J, Wilson MA, Tessarollo L, Kosofsky BE, Taylor JR, Bothwell M, Nestler EJ, Aghajanian GK, Jaenisch R. Neurotrophin-3 modulates noradrenergic neuron function and opiate withdrawal. *Mol Psychiatry*. 2001;6(5):593-04.
- Al-Hasani R, Bruchas MR. Molecular mechanisms of opioit receptor-dependent signaling and behavior. *Anesthesiology*. 2011;115(6):1363-81.
- Almela P, Navarro-Zaragoza J, García-Carmona JA, Mora L, Hidalgo J, Milanés MV, Laorden ML. Role of Corticotropin-Releasing Factor (CRF) Receptor-1 on the Catecholaminergic Response to Morphine Withdrawal in the Nucleus Accumbens (NAc). *PLoS One*. 2012;7(10):e47089.
- Aminyavari S, Zahmatkesh M, Farahmandfar M, Khodaghohi F, Dargahi L, Zarrindast MR. Protective role of Apelin-13 on amyloid β 25-35-induced memory deficit; Involvement of autophagy and apoptosis process. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2019 Mar 8;89:322-34.
- Anand, K. ve Dhikav, V. Hippocampus in health and disease: An overview. *Annals of Indian Academy of Neurology*, 2012;Vol. 15, 239–46
- Anne-Marie O'Carroll, Stephen J Lolait, Louise E Harris ve George R Papa endokrinoloji dergisi cilt 219 sayılı Ekim 2013 <https://doi.org/10.1530/JOE-13-0227>
- Azizi Y, Imani A, Fanaei H, Khamse S, Parvizi MR, Faghihi M. Post-infarct treatment with [Pyr(1)] apelin-13 exerts anti-remodelling and anti-apoptotic effects in rats' hearts. *Kardiol Pol*. 2017; 75: 605-12.
- Bannerman DM1, Matthews P, Deacon RM, Rawlins JN. Medial Septal Lesions Mimic Effects of Both Selective Dorsal and Ventral Hippocampal Lesions. *Behavioral Neuroscience*. 2004; 118(5):1033-41.
- Bao HJ, Zhang L, Han WC, Dai DK. Apelin-13 attenuates traumatic brain injury-induced damage by suppressing autophagy. *Neurochem Res*. 2015 Jan;40(1):89-97.
- Baser T, Özdemir E, Taskiran S, Arslan G. The Effect of Ghrelin Receptor on Morphine Analgesia and Tolerance in Rats. *Neuroendocrinology*. 2018;107:31.
- Beltowski J. Apelin and visfatin: Unique "beneficial" adipokines upregulated in obesity? *Medical Science Monitor* 2006; 12(6): Ra112-Ra119.
- Bhargava HN. Diversity of agents that modify opioit tolerance, physical dependence, abstinence syndrome, and self-administrative behavior. *Pharmacol. Rev*. 1994;46(3):293-24.
- Boal F, Roumegoux J, Alfarano C, Timotin A, Calise D, Anesia R, Drougard A, Knauf C, Lagente C, Roncalli J, Desmoulin F, Tronchere H, Valet P, Parini A, Kunduzova O. Apelin regulates FoxO3 translocation to mediate cardioprotective responses to myocardial injury and obesity. *Sci Rep*. 2015; 5: 16104
- Boucher J, Masri B, Daviaud D, Gesta S, Guigne C, Mazzucotelli A, Castan-Laurell I, Tack I, Knibiehler B, Carpenne C, Audigier Y, Saulnier-Blache JS, Valet P. Apelin, a newly identified adipokine up-regulated by insülin and obesity. *Endocrinology* 2005; 146(4): 1764-71.
- Brailoiu GC, Dun SL, Yang J, Ohsawa M, Chang JK, Dun NJ. Apelin-immunoreactivity in the rat hypothalamus and pituitary. *Neurosci Lett*. 2002; 327: 193-97.
- Brunton LL, Chabner BA, Knollmann BC. Goodman&Gillman The Pharmacological Basic Of Therapeutics. Goodman Gilman's Pharmacol. Basis Ther. 2011.
- C. Chavez-Almagro, I. Castan-Laurell, C. Dray, C. Knauf, P. Valet, B. Masri. Apelin receptors: From signaling to antidiabetic strategy. *Eur J Pharmacol*. 2015, 15;763 (149-159). doi: 10.1016/j.ejphar.2015.05.017.

- Cai X, Bai B, Zhang R, Wang C, Chen J. Apelin receptor homodimer-oligomers revealed by single-molecule imaging and novel G protein-dependent signaling. *Scientific Reports*, 2017; 7(1), 40335.
- Castan-Laurell I, Dray C, Attané C, Duparc T, Knauf C, Valet P. Apelin, diabetes, and obesity. *Endocrine*, 2011 Aug;40(1):1-9
- Chen C, Nong Z, Huang J, Chen Z, Zhang S, Jiao Y, Chen X, Huang R. Yulangsang polysaccharide attenuates withdrawal symptoms and regulates the NO pathway in morphine-dependent rats. *Neurosci Lett*. 2014;6;570:63-8.
- Christie MJ. Cellular neuroadaptations to chronic opioids: Tolerance, withdrawal and addiction. *Br. J. Pharmacol*. 2008;154(2):384-96.
- D'udine B, Gozzo S. Archicortex and neocortex in the precocial murid *acomys cahirinus*. A comparison with two altricial species: *Mus musculus* and *rattus norvegicus*. *International Journal of Neuroscience*. 2009; 20(3):255-63
- Dai T, Ramirez-Correa G, Gao WD. Apelin increases contractility in failing cardiac muscle. *Eur J Pharmacol*. 2006; 553: 222-28.
- Dai TT, Wang B, Xiao ZY, You Y, Tian SW. Apelin-13 upregulates BDNF against chronic stress-induced depression-like phenotypes by ameliorating HPA axis and hippocampal glucocorticoid receptor dysfunctions. *Neuroscience*. 2018 Oct 15;390:151-59.
- De Mota N, Lenkei Z, Llorens-Cortès C. Cloning, pharmacological characterization and brain distribution of the rat apelin receptor. *Neuroendocrinology*. 2000 Dec;72(6):400-7.
- De Muth JE, *Basic statistics and pharmaceutical statistical applications*, CRC Press, p 2014.
- Demirkapu MJ, Yananlı HR. *Opium Alkaloids*. IntechOpen. 2020. DOI:10.5772/intechopen.91326. <https://www.intechopen.com/online-first/opium-alkaloids>
- Devic E, Rizzoti K, Bodin S, Knibiehler B, Audigier Y. Amino acid sequence and embryonic expression of *msr/apj*, the mouse homolog of *Xenopus X-msr* and human APJ. *Mechanisms of Development* 1999; 84(1-2): 199-03.
- EMCDDA. *European Drug Report: Trends and Developments*. Luxembourg; EMCDDA; 2017.
- Falcao-Pires I, Leite-Moreira AF. Apelin: a novel neurohumoral modulator of the cardiovascular system. Pathophysiologic importance and potential use as a therapeutic target. *Rev Port Cardiol* 2005; 24(10): 1263-76.
- Gendron L, Cahill CM, Von Zastrow M, Schiller PW, Pineyro G. Molecular pharmacology of δ -opioid receptors. *Pharmacol Rev. American Society for Pharmacology and Experimental Therapy*; 2016;68(3):631–00.
- Habata Y, Fujii R, Hosoya M, Fukusumi S, Kawamata Y, et al. the natural ligand of the orphan receptor APJ, is abundantly secreted in the colostrum. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research* 1999;1452(1): 25-35.
- Hall JH, Editör; Çağlayan Yeğen B, Alican İnci, Solakoğlu Z. *Guyton ve Hall Tıbbi fizyoloji*. 12. Basım. inc Nobel Tıp Kitap Evi. 2013.
- Hosoya M, Kawamata Y, Fukusumi S, Fujii R, Habata Y, et al. Molecular and functional characteristics of APJ Tissue distribution of mRNA and interaction with the endogenous ligand apelin. *Journal of Biological Chemistry* 2000; 275(28): 21061-67.
- Hus-Citharel A, Bouby N, Frugiere A, Bodineau L, Gasc JM, Llorens-Cortes C. Effect of apelin on glomerular hemodynamic function in the rat kidney. *Kidney Int*. 2008; 74: 486-94.
- <https://www.abcam.com/index.html?pageconfig=resource&rid=14861> (05 Şubat 2021)
- https://www.pharmawiki.ch/wiki/index.php?wiki=Oxycodon_und_Naloxon&search=Oxycodon (06 Mart 2021)
- <https://www.unodc.org/unodc/en/data-and-analysis/WDR-2009.html> (18 Şubat 2021)
- <https://www.ilactr.com/ilac/morfin.html> (12 Mart 2021)

- <http://www.acikbilim.com/wp-content/uploads/2015/03/bagimlilik5.png> (08 Şubat 2021)
- <https://www.unodc.org/unodc/en/data-and-analysis/WDR-2004.html> (27 Şubat 2021)
- İzci Y, Erbaş YC, Hipokampus: yapısı ve fonksiyonları. *Türk Nöroşir Derg.* 2015;25(3):287-95
- Jaffe J. Opiates. Glass I, editor. *The international handbook of addiction behaviour.* London: Routledge; 2016
- Jaffe, JH. ve Strain, E.C. Opiyalara bağlı bozukluklar. İçinde: *Comprehensive Textbook of Psychiatry.* Ed: Kaplan ve Sadocks'. Ankara, Öncü Basımevi, 2007;1265-90.
- Kaka G, Rahmanzade R, Safee F, Haghparast A. Naloxone induces frequent jumping after chronic morphine and methamphetamine co-administration in rats. *Basic Clin Neurosci.* 2014;5(1):42-7.
- Kalantaripour TP, Esmaeili-Mahani S, Sheibani V, Asadi-Shekaari M, Pasban-Aliabadi H. Anticonvulsant and neuroprotective effects of apelin-13 on pentylenetetrazole-induced seizures in male rats. *Biomed Pharmacother.* 2016 Dec;84:258-63.
- Kalso E, Edwards JE, Moore RA, McQuay HJ. Opioids in chronic non-cancer pain: Systematic review of efficacy and safety. *Pain.* 2004;112(3):372-80.
- Kaplan & Sadock's Concise Textbook of Clinical Psychiatry. Sadock BJ, Sadock VA, editors. New York: Lippincott Williams & Wilkins, 2005.
- Katzung BG, Masters SB, Trevor AJ. *Basic & Clinical Pharmacology.* Çeviren: Akkan AG, Büyükuysal RL, et al. Temel ve Klinik Farmakoloji. 12. Baskı. Nobel Tıp Kitabevleri. 201
- Kawamata Y, Fukusumi S, Hosoya M, Fujii R, Hinuma S, et al. Molecular properties of apelin: tissue distribution and receptor binding. *Biochimica Et Biophysica Acta-Molecular Cell Research* 2001; 1538(2-3): 162-71.
- Kayaalp O. Akılcıl Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji. 13. Baskı. Pelikan Yayıncılık, Ankara: 2012
- Kayaalp SO. Santral sinir sistemini etkileyen ilaçlar ve anesteziyolojide kullanılan bazı ilaçlar. *Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji.* Ankara: Hacettepe-Taş Kitapçılık; 2000.
- Kleinz MJ, Davenport AP. Emerging roles of apelin in biology and medicine. *Pharmacology & Therapeutics,* 2005; 107(2), 198–11.
- Koguchi W, Kobayashi N, Takeshima H, Ishikawa M, Sugiyama F, Ishimitsu T. Cardioprotective effect of apelin-13 on cardiac performance and remodeling in end-stage heart failure. *Circ J.* 2012; 76: 137-44.
- Koob GF, Le Moal M. *Neurobiology of Addiction.* Neurobiol. Addict. 2006.
- Kuba K, Sato T, Imai Y, Tamokazu Y. Apelin and Elabela/Toddler; double ligands for APJ/Apelin receptor in heart development, physiology, and pathology. *Peptides.* 2019;(111): 62-70.
- Koob GF, Volkow ND. *Neurobiology of addiction: a neurocircuitry analysis.* *The Lancet Psychiatry.* 2016;3(8):760–773. DOI:10.1016/s2215-0366(16)00104-8
- Köroğlu, E. *Klinik Uygulamada Psikiyatri. Tanı ve Tedavi Klavuzları.* Ankara:Hekimler Yayın Birliği, 2009;483-95.
- Lagali PS, Corcoran CP, Picketts DJ. Hippocampus development and function: role of epigenetic factors and implications for cognitive disease. *Clinical Genetics,* 2010;78(4), 321–33.
- Lambrecht NWG, Yakubov I, Scott D, Sachs G. Identification of the K efflux channel coupled to the gastric H-K ATPase during acid secretion. *Physiological Genomics* 2005; 21(1):
- Lee DK, Cheng R, Nguyen T, Fan T, Kariyawasam AP, et al. Characterization of apelin, the ligand for the APJ receptor. *Journal of Neurochemistry* 2000; 74(1): 34- 41.
- Li E, Deng H, Wang B, Fu W, You Y, Tian S. Apelin-13 exerts antidepressant-like and recognition memory improving activities in stressed rats. *Eur Neuropsychopharmacol.* 2016 Mar;26(3):420-30.

- Lv SY, Qin YJ, Wang NB, Yang YJ, Chen Q. Supraspinal antinociceptive effect of apelin-13 in a mouse visceral pain model. *Peptides*, 2012; 37(1), 165–70.
- Malamitsi-Puchner A, Gourgiotis D, Boutsikou M, Baka S, Hassiakos D, et al. Circulating apelin concentrations in mother/infant pairs at term. *Acta Paediatrica* 2007; 96(12): 1751-54.
- Malberg JE, Eisch AJ, Nestler EJ, Duman RS. Chronic antidepressant treatment increases neurogenesis in adult rat hippocampus. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 2000; 20(24), 9104–10.
- Medhurst AD, Jennings CA, Robbins MJ, Davis RP, Ellis C, et al. Pharmacological and immunohistochemical characterization of the APJ receptor and its endogenous ligand apelin. *Journal of Neurochemistry* 2003; 84(5):1162-72.
- Mochida S. Presynaptic calcium channels. *Neurosci. Res.* 2018;127:33-44.
- O'Carroll AM1, Lolait SJ, Harris LE, Pope GR. The apelin receptor APJ: Journey from an orphan to a multifaceted regulator of homeostasis. *Journal of Endocrinology*, 2013; 11;219(1):R13-35
- Odwod BF, Heiber M, Chan A, Heng HHQ, Tsui LC et al. A Human Gene That Shows Identity with the Gene Encoding the Angiotensin Receptor Is Located on Chromosome-11. *Gene*. 1993; 136: 355-60.
- Ozawa T, Nakagawa T, Shige K, Minami M, Satoh M. Changes in the expression of glial glutamate transporters in the rat brain accompanied with morphine dependence and naloxone-precipitated withdrawal. *Brain Res.* 2001;905(1-2):254-58.
- Ögel K, Koç, C., Aksoy, A. Başabak, A., ve Evren, C. Sigara, alkol ve madde bağımlılığı tedavi programı (SAMBA). İstanbul: Yeniden Yayınları; 2012.
- Özden, SY. Uyuşturucu Madde Bağımlılığı. İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri, 2004.
- Peng J, Sarkar S, Chang SL. Opioid receptor expression in human brain and peripheral tissues using absolute quantitative real-time RT-PCR. *Drug Alcohol Depend.* 2012;124(3):223–8.
- Pintér-Kübler B, Ferenczi S, Núñez C, Zelei E, Polyák Á, Milanés MV, Kovács KJ. Differential changes in expression of stress- and metabolic-related neuropeptides in the rat hypothalamus during morphine dependence and withdrawal. *PLoS One.* 2013;8(6):e67027.
- Pisarenko OI, Lankin VZ, Konovalova GG, Serebryakova LI, Shulzhenko VS, Timoshin AA, Tskitishvili OV, Pelogeykina YA, Studneva IM. Apelin-12 and its structural analog enhance antioxidant defense in experimental myocardial ischemia and reperfusion. *Mol Cell Biochem.* 2014; 391: 241-50.
- Raghav R, Jain R, Dhawan A, Roy TS, Kumar P. Chronic co-administration of nalbuphine attenuates the development of opioid dependence. *Pharmacol Biochem Behav.* 2018;175:130-38
- Reaux A, De Mota N, Skultetyova I, Lenkei Z, El Messari S, et al. Physiological role of a novel neuropeptide, apelin, and its receptor in the rat brain. *Journal of Neurochemistry* 2001; 77(4): 108
- Roberts EM, Pope GR, Newson MJ, Landgraf R, Lolait SJ, O'Carroll AM. Stimulus-specific neuroendocrine responses to osmotic challenges in apelin receptor knockout mice. *J Neuroendocrinol.* 2010; 22: 301-08.
- Rostamzadeh F, Najafipour H, Yeganeh-Hajahmadi M, Joukar S. Opioid receptors mediate inotropic and depressor effects of apelin in rats with 2K1C-induced chronic renovascular hypertension. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 2018 Feb;45(2):187-97.
- Sağlam, E., Uzbay, Tİ. ve Beyazyürek, M. Madde bağımlılığının psikofarmakolojik özellikleri. *Bağımlılık Dergisi*; 2003;4: 2: 81-7.
- Sağlık Bakanlığı. Kontrolde Tabi Madde ve Müstahzarlara İlişkin Reçeteler Hakkında Genelge. TİTCK, Ankara: Sağlık Bakanlığı; 14.03.2016
- Sağlık Bakanlığı. Yataklı Tedavi Kurumlarında Kontrolde Tabi İlaçların Takibi. Ankara: Sağlık Bakanlığı; 14.03.2016

- Saint-Geniez M, Argence B, Knibiehler B, Audigier Y. The msr/apj gene encoding the apelin receptor is an early and specific marker of the venous phenotype in the retinal vasculature. *Gene Expression Patterns* 2003; 3(4): 467-72.
- Schiff PL. Opium and its alkaloids. *Am. J. Pharm. Educ.* 2002.
- Shen P, Yue Q, Fu W, Tian SW, You Y. Apelin-13 ameliorates chronic water-immersion restraint stress-induced memory performance deficit through upregulation of BDNF in rats. *Neurosci Lett.* 2019 Mar 23;696:151-55.
- Shin K, Kenward C, Rainey JK. Apelinergic System Structure and Function. *Compr Physiol.* 2017; 8: 407-50.
- Simon, EJ. Opiates: Neurobiology. (Eds:)Lowinson, JH., Ruiz, P., Millman, RB., Langrod, JG. Substance Abuse - A Comprehensive Textbook. 4. Edition, New York: Lippincott Williams & Wilkins, 2005;164-80.
- Surget A, Tanti A, Leonardo ED, Laugeray A, Rainer Q, Touma C, Palme R, Griebel G, Ibarguen-Vargas Y, Hen R, Belzung C. Antidepressants recruit new neurons to improve stress response regulation. *Molecular Psychiatry*, 2011 Dec;16(12):1177-88.
- Szokodi I, Tavi P, Földes G, Voutilainen S, Ilves M, Tokola H, Ruskoaho H. Apelin, the Novel Endogenous Ligand of the Orphan Receptor APJ, Regulates Cardiac Contractility. *Circulation Research*, 2002; 6;91(5):434-40.
- Tatemoto K, Hosoya M, Habata Y, Fujii R, Kakegawa T, Zou MX, Kawamata Y, Fukusumi S, Hinuma S, Kitada C, Kurokawa T, Onda H, Fujino M. Isolation and characterization of a novel endogenous peptide ligand for the human APJ receptor. *Biochem Biophys Res Commun.* 1998 Oct 20;251(2):471-6.
- Toll L, Bruchas MR, Calo' G, Cox BM, Zaveri NT. Nociceptin/orphanin FQ receptor structure, signaling, ligands, functions, and interactions with opioit systems. *Pharmacol. Rev.* 2016;68(2):419-57.
- Trescot AM, Datta S, Lee M, Hans H. Opioit pharmacology. *Pain Physician.* 2008.
- Turtay MG, Karabas M, Parlakpınar H, Colak C, Sagir M. The analgesic effect of apelin-13 and its mechanism of action within the nitric oxide and serotonin pathways. *Hippokratia.* 2015 Oct-Dec;19(4):319-23.
- Uğurlu TT, Şengül CB, Şengül C. Bağımlılık psikofarmakolojisi. / Psychopharmacology of addiction. *Psikiyatr Güncel Yaklaşımlar.* 2012.
- Uzbay İ. Madde bağımlılığı tüm boyutlarıyla bağımlılık ve bağımlılık yapıcı maddeler. İstanbul: İstanbul Tıp Kitabevi; 2015.
- Wang GY, Anini Y, Wei W, Qi X, O'Carroll AM, et al. Apelin, a new enteric peptide: Localization in the gastrointestinal tract, ontogeny, and stimulation of gastric cell proliferation and of cholecystokinin secretion. *Endocrinology* 2004; 145(3): 1342-48.
- Wang GY, Kundu R, Han S, Qi X, Englander EW, et al. Ontogeny of apelin and its receptor in the rodent gastrointestinal tract. *Regulatory Peptides* 2009; 158(1-3): 32-39.
- Winzell MS, Magnusson C, Ahren B. The apj receptor is expressed in pancreatic islets and its ligand, apelin, inhibits insulin secretion in mice. *Regulatory Peptides* 2005; 131(1-3): 12-17.
- Xiao ZY, Wang B, Fu W, Jin X, You Y, Tian SW, Kuang X. The Hippocampus is a Critical Site Mediating Antidepressant-like Activity of Apelin-13 in Rats. *Neuroscience.* 2018 Apr 1;375:1-9.
- Xu N, Wang H, Fan L, Chen Q. Supraspinal administration of apelin-13 induces antinociception via the opioit receptor in mice. *Peptides.* 2009 Jun;30(6):1153-7
- Yaluğ, İ., Özdemir, S. ve Aker, AT. Travma sonrası stres bozukluğu ve kronik ağrı birlikteliği zemininde opioit bağımlılığı. *New/Yeni Symposium Journal*; 2008;46: 4: 200-5.
- Yan XG, Cheng BH, Wang X, Ding LC, Liu HQ, Chen J, Bai B. Lateral intracerebroventricular injection of Apelin-13 inhibits apoptosis after cerebral ischemia/reperfusion injury. *Neural Regen Res.* 2015 May;10(5):766-71.

- Yang Y, Zhang XJ, Li LT, Cui HY, Zhang C, Zhu CH, Miao JY. Apelin-13 protects against apoptosis by activating AMP-activated protein kinase pathway in ischemia stroke. *Peptides*. 2016 Jan;75:96-100
- Yang PR, Maguire JJ, Davenport AP. Apelin, Elabela/Toddler, and biased agonists as novel therapeutic agents in the cardiovascular system. *Trends Pharmacol Sci*. 2015; 36: 560-67.
- Yeganeh-Hajahmadi M, Najafipour H, Farzaneh F, Esmaeili-Mahani S, Joukar S. Effect of apelin on cardiac contractility in acute reno-vascular hypertension: The role of apelin receptor and kappa opioit receptor heterodimerization. *Iran J Basic Med Sci*. 2018 Dec;21(12):1305-15.
- Yudin Y, Rohacs T. Inhibitory Gi/O-coupled receptors in somatosensory neurons: Potential therapeutic targets for novel analgesics. *Mol. Pain*. 2018.

8. ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı - Soyadı	İbrahim YILDIZ
Uyruğu	T.C.
Doğum Tarihi ve Yeri	1985 / Ankara
Medeni Durumu	Evli
E-mail	
Tel	
Yazışma Adresi	

Eğitim Düzeyi	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mezuniyet Yılı
Lisans	S.Ü. Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü	2012
Lise	Ankara Halide Edip Lisesi	2004

İş Deneyimi

Görevi	Kurum / Görev	Süre (Yıl-Yıl)
1. Biyolog	NEÜ Meram Tıp Fak. Hast. Kan Mer.	2010-2021
2. Biyolog	NEÜ KONÜDAM	2021-

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

9. EKLER



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



Karar Sayısı: 2020 – 005

Karar Tarihi: 16.01.2020

HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURUL KARARI

Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Fizyoloji ABD'den Prof. Dr. Selim KUTLU ve İbrahim YILDIZ tarafından sunulan **"Sıçanlardaki Morfin Bağımlılığının Hipokampal Apelin ve Apelin Reseptörü Gen Ekspresyon Düzeylerine Etkisi"** başlıklı tez projesi 9 üyenin katılımı ile değerlendirildi.

Projede 5 grupta toplamda 36 adet sıçan kullanılacağı, sıçanların hafif eter sedasyonundan sonra dekapitasyonla ile sakrifiye edileceği bildirilmiştir.

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

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

Ek1. Necmettin Erbakan Üniversitesi KONÜDAM Hayvan Deneyleri Etik Kurulu Kararı