



T.C.
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

AKUT VE KRONİK MORFİN UYGULAMASI SONRASI NUKLEUS
AKKUMBENS'TE DOPAMİN VE DOPAC ÇIKIŞI ÜZERİNE MERKEZİ
YOLLA UYGULANAN GLİSİL-GLUTAMİN'İN ETKİSİ

Dr. Nesrin FİLİZ BAŞARAN

UZMANLIK TEZİ

Bursa-2010



T.C.
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

AKUT VE KRONİK MORFİN UYGULAMASI SONRASI NUKLEUS
AKKUMBENS'TE DOPAMİN VE DOPAC ÇIKIŞI ÜZERİNE MERKEZİ
YOLLA UYGULANAN GLİSİL-GLUTAMİN'İN ETKİSİ

Dr. Nesrin FİLİZ BAŞARAN

UZMANLIK TEZİ

Danışman: Doç. Dr. Sinan ÇAVUN

Bursa-2010

İÇİNDEKİLER

Özet.....	ii
İngilizce Özet.....	iii
Giriş.....	1
Bağımlılık.....	2
Bağımlılık Gelişiminde Beyindeki Önemli Merkezler.....	5
Opioid Bağımlılığı ve Genel Özellikleri.....	10
Dopamin.....	16
Bağımlılıkta diğer Nörotransmitterlerin Rolü.....	21
Gereç ve Yöntem.....	24
Cerrahi.....	24
Mikrodiyaliz.....	25
Deney Prosedürü.....	27
İn Vitro Prob Recovery.....	29
HPLC Sistemi, Dopamin ve DOPAC ölçümleri.....	31
Histoloji.....	35
İstatistik.....	36
Bulgular.....	37
Akut Morfin Verilmesi Sonrası Dopamin ve DOPAC saliverilmesi üzerine Gly-Gln'in etkisi.....	37
Kronik Morfin Verilmesi Sonrası Dopamin ve DOPAC saliverilmesi üzerine Gly-Gln'in etkisi.....	40
Tartışma ve Sonuç.....	44
Kaynaklar.....	50
Teşekkür.....	62
Özgeçmiş.....	63

ÖZET

Bu çalışmada akut ve kronik olarak morfin uygulanması sonrası nukleus akkumbens'te (NAK) dopamin ve dihidroksifenilasetik asit (DOPAC) salınımı üzerine Glycyl-L-Glutamin'in (Gly-Gln) etkisi araştırıldı.

Deneylerde 300-350 g ağırlığında Sprague-Dawley erkek sıçanlar kullanıldı. Morfin hidroklorür intraperitoneal (i.p.), Gly-Gln intraserebroventriküler (i.s.v.) yolla verildi. NAK'e yerleştirilen mikrodializ probundan toplanan örneklerde Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi (High Pressure Liquid Chromatography, HPLC) kullanılarak dopamin ve DOPAC düzeyleri ölçüldü.

Gly-Gln (1, 3, 30 ve 100 nmol/5µl; i.s.v.) tek doz morfin (2,5 mg/kg; i.p.) verilmesi sonrası görülen dopamin artışını doz ve zamana bağlı olarak anlamlı bir şekilde inhibe etti. Benzer şekilde kronik morfin verilmesi (6 gün sabah ve akşam 10 mg/kg; i.p.) ile görülen dopamin çıkışı da Gly-L-Gln (100 nmol/5µl; i.s.v.) ile bloke oldu.

Bu çalışmadan elde edilen bulgular Gly-Gln'in morfin bağımlılığını önleyici etkisinde NAK'te dopamin saliverilmesini azaltmasının rolü olabileceğini ortaya koymaktadır. Kronik dönemde de benzer etkinin gözlenmesi Gly-Gln'in terapötik potansiyele sahip olabileceği görüşünü desteklemektedir.

Anahtar kelimeler: bağımlılık, morfin, dopamin, Gly-Gln, nukleus akkumbens.

SUMMARY

The Effect Of Centrally Injected Glycyl-Glutamine After Acute And Chronic Morphine Administration On Dopamin And DOPAC Output In Nucleus Accumbens

In this study the effect of Glycyl-Glutamine (Gly-Gln) on dopamine and DOPAC (3,4-Dihydroxy-Phenylacetic Acid) release in nucleus accumbens (NAc.) after acute and chronic morphine administration was investigated.

Sprague-Dawley male, 300-350 g weight rats were used in the experiments. Morphine hydrochlorur was injected intraperitoneally (i.p.), Gly-Gln was administered intracerebroventricularly (i.c.v.). NAc dialyisate Dopamin and DOPAC levels were evaluated by using High Pressure Liquid Chromatography (HPLC).

Gly-Gln (1, 3, 30 ve 100 nmol/5µl; i.c.v.) significantly inhibited the dopamine increase caused by single dose morphine (2,5 mg/kg; i.p.) administration in time and dose dependent manner. Gly-Gln (100 nmol/5µl; i.c.v.) also blocked dopamine increase seen after chronic morphine (6 day, given twice daily 10 mg/kg, i.p.) administration singificantly.

The findings obtained from this study showed that Gly-Gln's preventing role in morphine dependence is related to its dopamin inhibiting effect in NAc. This blockage was seen also in chronic morphine administration which strengthens the possibility of Gly-Gln as therapeutic agent.

Key words: dependence, morphine, dopamine, Gly-Gln, nucleus accumbens.

GİRİŞ

Madde bağımlılığı gelişen kişi sayısı son yıllarda gerek ülkemizde gerekse dünya çapında giderek artan sayılara ulaşmıştır. Maddeyi kullanan bireyin kendisi ciddi hasarlar alırken ailesi ve sosyal çevresi de zarar görmektedir. Günümüzde halen bağımlılık tedavisinde kullanılacak etkin bir ilaç bulunmamaktadır.

Bağımlılık gelişimi beyinde meydana gelen birtakım değişiklikler sonucu oluşmaktadır. Bu süreçte en önemli ve araştırmaların odak noktası olan nörotransmitter dopamindir. Dopamin motor fonksiyonlar ve öğrenmede rol alan bir katekolamindir (1). Bağımlılık çalışmalarında doğal ödüllendirici (yeme-içme, seks) davranışların beynin belirli bölgelerinde dopamin saliverilmesini artırdığı gösterilmiştir. Bağımlılık yapan maddelerin de (morfin, eroin, etanol, nikotin, kokain, tetrahidrokanabinol) beynin aynı bölgelerinde dopamin saliverilmesini arttırdığı saptanmış ve bağımlılık yapıcı etkileri özellikle dopaminle ilişkilendirilmiştir (2).

Beyinde “ödül merkezleri” olarak adlandırılan dopaminerjik yollar ventral tegmental alandan NAK'e ve prefrontal kortekse uzanan dopaminerjik projeksiyonlardır. Bu bölgelerin uyarılması ile dopamin saliverilmesinin arttığı ve haz duygusu oluştuğu bilinmektedir (2).

Morfin klinikte kullanılan analjezik amaçla bir ilaçtır. Etkilerine zamanla tolerans gelişmesi ve bağımlılık yapma potansiyeli kullanımını sınırlamaktadır. Beta-endorfinden proteolitik yıkımla sentezlenen bir dipeptid olan Gly-Gln, morfinin analjezik etkisine dokunmaksızın onun neden olduğu respiratuvar depresyonu ortadan kaldırmıştır (3). Sonrasında yapılan çalışmalarda Gly-Gln'in morfin (4), nikotin (5) ve etanol (6-8) bağımlılığını önlediği gösterilmiştir. Diğer taraftan Gly-Gln'in, morfine bağlı gelişen bağımlılığı ve yoksunluk sendromu semptomlarını önlediği, gelişen toleransı geri çevirdiği ve koşullandırılmış yer tercihini inhibe ettiği de gösterilmiştir (4).

Bu çalışmada bağımlılık tedavisinde terapötik potansiyele sahip olduğu düşünülen Gly-Gln'in etki mekanizmasında dopamin ve NAK'in rolü araştırıldı.

1. Bağımlılık

İlaçların tıbbi endikasyon dışında ve özellikle hekimin gerek göstermediği durumlarda kişinin kendi inisiyatifi ile veya yetkisiz kişilerin tavsiyesi üzerine kullanılması "ilaç kötüye kullanımı" veya "tıbbi olmayan ilaç kullanımı" diye adlandırılır. Tıpta ilaç olarak kullanılan maddeler dışında, ilaç niteliğinde olmayan psikoaktif maddeler de kötüye kullanıldığı için ilaç kötüye kullanımı ve ilaç bağımlılığı yerine "madde kötüye kullanımı" ve "madde bağımlılığı" terimlerini kullanmak daha doğru bir yaklaşım olarak kabul edilmektedir (9).

Kötüye kullanılan maddelerin hepsi, gerçekte bağımlılık-yapıcı, diğer bir ifade ile addiktif maddelerdir. Madde kullanma veya ona maruz kalma kötüye kullanma düzeyinde ise, beyinde psişik ve fiziksel bağımlılık oluşması ile ilişkili merkezlerde biyolojik adaptasyon veya adaptif değişikliklerin meydana gelmediği ya da belirgin olmadığı kabul edilir. Bu nedenle madde kötüye kullanımı göreceli olarak biyolojik bir olay sayılmaz. Buna karşın madde bağımlılığı, psikolojik ve fiziksel öğeleri gerek in vivo ve in vitro deneysel çalışmalarda ve gerekse klinik testlerle insanlar üzerinde gösterilebilen biyolojik bir olaydır (9).

Tıbbi terminolojide bağımlılık genetik, psikososyal ve çevresel boyutları olan kronik bir nörobiyolojik bozukluk olarak tanımlanmaktadır. Sağlığa zararlı olmasına rağmen alımın sürdürülmesi, ilaç kullanımında kontrolün kaybı ve ilacın terapötik amaç dışında kullanımı ile karakterizedir. Dünya Sağlık Örgütüne göre ise bağımlılık; psikotrop bir madde ile santral sinir sistemi arasındaki etkileşmeden doğan, maddelerin haz verici ve ödüllendirici etkilerini duyumsamak veya yokluğundan kaynaklanabilecek huzursuzluktan kaçmak/kaçınmak için maddeyi devamlı alma dürtüsü başta olmak üzere çeşitli davranışsal ve diğer reaksiyonların eşlik ettiği psişik ve bazen de ilave olarak somatik (fiziksel) nitelikli bir durumdur (9).

Bir maddeyi bağımlılık olmaksızın kötüye kullanan kimse, maddenin günlük etkinliklerini bozmamasına özen gösterecek kadar bilinçli ve kendine egemendir. Aksine madde bağımlısı, kendisini ilacın egemenliğine teslim etmiştir ve günlük etkinliklerin madde almasını engellemesinden büyük bir rahatsızlık duyar. İlaç kötüye kullanımı ile bağımlılığın ayrımı kesin değildir. Bağımlılığın derecesi, ilaç arama davranışının ve dürtüsünün derecesi ile ve bu dürtünün günlük etkinlikler içindeki öncelik sırası ile ölçülebilir (9).

Bağımlılık diğer pek çok nöropsikiyatrik bozukluk gibi davranışsal olarak değerlendirilip tanı almaktadır. Bugün klinik tanıda bağımlılık için DSM IV'e (The Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders- Fourth Edition, American Psychiatric Association, 1994) göre, madde kötüye kullanma ve madde bağımlılığı diye ayrı iki tanı bulunmaktadır.

1.A. Psişik ve Fiziksel Bağımlılık

Maddenin pozitif pekiştiri yapmasına bağlı olan psişik bağımlılık maddeyi kullanma arzusunun devamı ile karakterize bir olaydır; maddeyi alma isteği (*craving, aşerme*) çok şiddetli hale gelmiştir ve bu önüne geçilmez bir arzu (*kompulsiyon*) niteliğindedir. Madde özlemi, kişiyi ilaç arama davranışı (*drug-seeking behaviour*) içine sokar. Maddeyi alma dürtüsü üzerindeki iradenin kontrolü kaybolur ve madde kişiyi kontrol eder hale gelir. Madde bağımlılığı olgularının hepsinde var olan psişik bağımlılığın derecesi, ilaç ve madde gruplarına göre ve belirli bir grup içindeki farklı ilaçlara göre değişiklik gösterir (9).

Fiziksel (fizyolojik) bağımlılık ise maddenin nöronal düzeyde meydana getirdiği adaptif değişikliklerin bir sonucu olarak gelişir. Söz konusu adaptasyon, maddenin etkilediği hedef nöronlardaki reseptörlerde ya da reseptör sonrası olaylarda ve/veya hedef nöronlarla ilişkili olan ve onların fonksiyonunu kontrol eden nöronların oluşturduğu sistemlerde yaptığı değişikliklerin bir sonucu olarak ortaya çıkar. Bu değişiklikler kullanılan maddeye göre, dopaminerjik, serotonerjik, noradrenerjik, opioidlerjik, GABAerjik, glutamaterjik, kannabinoiderjik gibi önemli nörotransmitter ve nöromodulator sistemler ile yakından ilgilidir. Maddenin etkilediği nöronlarda meydana gelen nöroadaptasyon şeklindeki söz konusu bu değişiklik,

maddeye karşı yanıt niteliğinde olduğu için kontradaptasyon (*counter-adaptation*) diye de adlandırılır; maddenin beyindeki agonistik etkinliği ile kontradaptif değişiklikler birbirini dengeler ve sonuçta yeni bir homeostaz oluşur (9).

Dengeleme nedeniyle kontradaptif değişiklikler madde vücutta bulunduğu sürece latent olarak kalır. Ancak maddenin kesilmesi veya farmakolojik antagonistinin verilmesi, agonistik etkinliği azalttığı veya ortadan kaldırdığı için, latent kontradaptif değişikliklerin baskıdan kurtulmasına ve bu adaptif değişikliklerin “yoksunluk sendrom”u (*withdrawal*) şeklinde ortaya çıkmasına neden olur. Gerçekte yoksunluk sendromunu oluşturan psişik ve somatik (fiziksel) belirtiler, nöronal sistemlerde agonistin yaptığı etkinin tersi olan değişmelerin dışarıya yansımalarından ibarettir. Bu nedenle yoksunluk sendromu genelde bir rebound olayı olarak kabul edilir (9).

1.B. Bağımlılık ve Ödüllendirme

1950’li yılların başında çeşitli beyin bölgelerinin elektrik stimülasyonu ile uyarılmasının kognitif fonksiyonlar üzerine etkisini araştıran Olds ve Milner tarafından tanımlanan ödüllendirme sistemi (10), “iyi olanı ödüllendir, kötü olanı cezalandır” mantığıyla çalışan bir sistemdir. Söz konusu modelin modifiye edilmesi sonrası, beyinde belirli bölgelere yerleştirilen elektrodlarla bazı beyin bölgelerinin elektrik stimülasyonu kendine verme olayını (*self-stimulasyon*) uyarmış ve bu bölgeler ödüllendirme sistemi olarak tanımlanmıştır (10). Normal koşullar altında ödüllendirme sistemi elektriksel uyarılarla değil belirli nörotransmitterlerle stimüle edilmektedir. Bu sistemin uyarılması öncelikle dopamin sonra da serotoninin stimülasyonuna bağlı iken, opioid peptidlerin modulator rol oynadığı sanılmaktadır. Bağımlılık yapan maddeler bu nörotransmitterlerin salıverilmesini stimüle ederek veya etkilerini reseptör düzeyinde taklit ederek göstermektedir (11).

Bağımlılık yapan ilaçları diğer psikoaktif ilaçlardan ayıran en önemli özellik pekiştirici (*reinforcer*) olmaları ve beyinde ödüllendirme merkezleri üzerine etki göstermeleridir. Bu ödül sistemlerinin aktivasyonu, kötüye kullanılan ilaçlara pozitif pekiştirici etki sağlar ve onların tekrarlanan bir şekilde kullanımlarına yol açar. Bir maddenin ruhsal durumda ve davranışta

yaptığı farmakolojik etki, onu tekrar kullanma veya ilaçsız edememe davranışını teşvik ediyorsa ya da pekiştiriyorsa, böyle bir madde pekiştiricidir. Böyle bir pekiştiriyeye “pozitif pekiştirici” adı verilir. Maddenin oluşturduğu keyif artması (*mood elevation*) veya öfori, pozitif pekiştirici için ana etkidir. Öfori yapıcı etkiye maddenin hedonik etkisi de denebilir (9).

2. Bağımlılık Gelişiminde Beyindeki Önemli Merkezler

Beynin ödüllendirme sistemi doğal ödüllendirici aktivitelerin yerine getirilmesi bakımından önemlidir. Yeme, içme, cinsellik, annelik davranışları gibi bireyin ve türün devamı için gerekli olan olaylar bu aktivitelerin başlıcalarıdır. Doğal seleksiyonun devamlılığının sağlanması için bu davranışlara güçlü ödüllendirici özellikler yüklendiği genel olarak kabul edilmektedir (12).

Yapılan araştırmalarda beyindeki ödüllendirme merkezlerinin uyarılmasının son derece güçlü haz verici etki meydana getirdiği gösterilmiştir (13). Bu uyarılar beyindeki doğal ödüllendirici sinyalleri taşıyan nöral yolları aktive etmektedir.

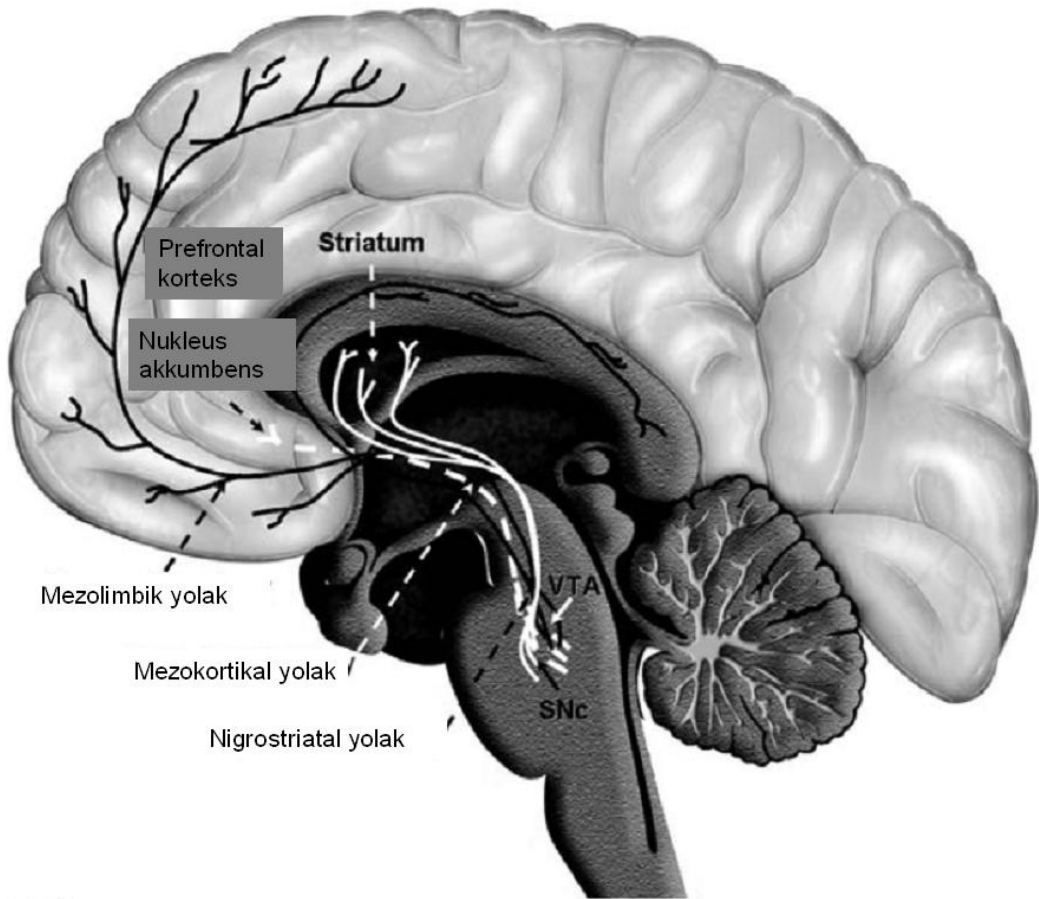
Kötüye kullanılan birçok ilaç direkt veya indirekt olarak beyin ödüllendirme sistemini etkilemektedir. Bu durum “ilaç kendine verme” (*drug self administration*) çalışmalarında gösterilmiştir (14). Bağımlılık yapan çoğu ilacın deneğin kendine uyguladığı elektrik stimülasyonunun miktarını azalttığı gösterilmiştir (15).

2.A. Mezo limbik Dopaminerjik Sistem

Beyindeki ödüllendirme sistemi birbirlerine projeksiyonlar gönderen merkezlerden oluşmaktadır. Bu projeksiyonlardan en önemlisi, orta beyinden (hipotalamus, ventral tegmental alan) ön beyine (frontal korteks, limbik sistem) uzanan nöral yolaktır (16, 17). Mezo kortikolimbik dopaminerjik sistem diye tanımlanan bu nöronlar ventral tegmental alan (VTA)’dan NAK’e uzanmaktadır (Şekil-1). Hücre gövdeleri VTA’da olup aksonları limbik sistemin bir komponenti olan NAK’te yerleşim gösterir. Limbik sistem özellikle

algı, motivasyon, zevk ve hafıza olmak üzere duygu ve davranış kontrolü ile ilgili nöral yapıları içermektedir.

Mekanizmaları net olarak aydınlatılmamış olsa bile, tanımlanan bu yapılar ve yolakların kötüye kullanılan tüm ilaçların ödüllendirici etkilerinde rol oynadığı kabul edilmektedir. Mezokortikolimbik dopaminerjik yolağın kokain ve amfetamin gibi stimulan etkili ilaçların ödüllendirici etkilerinde (16-18), VTA ve nukleus akkumbens ise opiyat ödüllendirmesinde önemli yere sahip olduğu gösterilmiştir (19). Bu iki alan ile birlikte amigdalanın da barbitürat ve alkol ödüllendirmesinde etkin bir rol oynadığı yapılan çalışmalarla ortaya konmuştur (16, 17, 20).

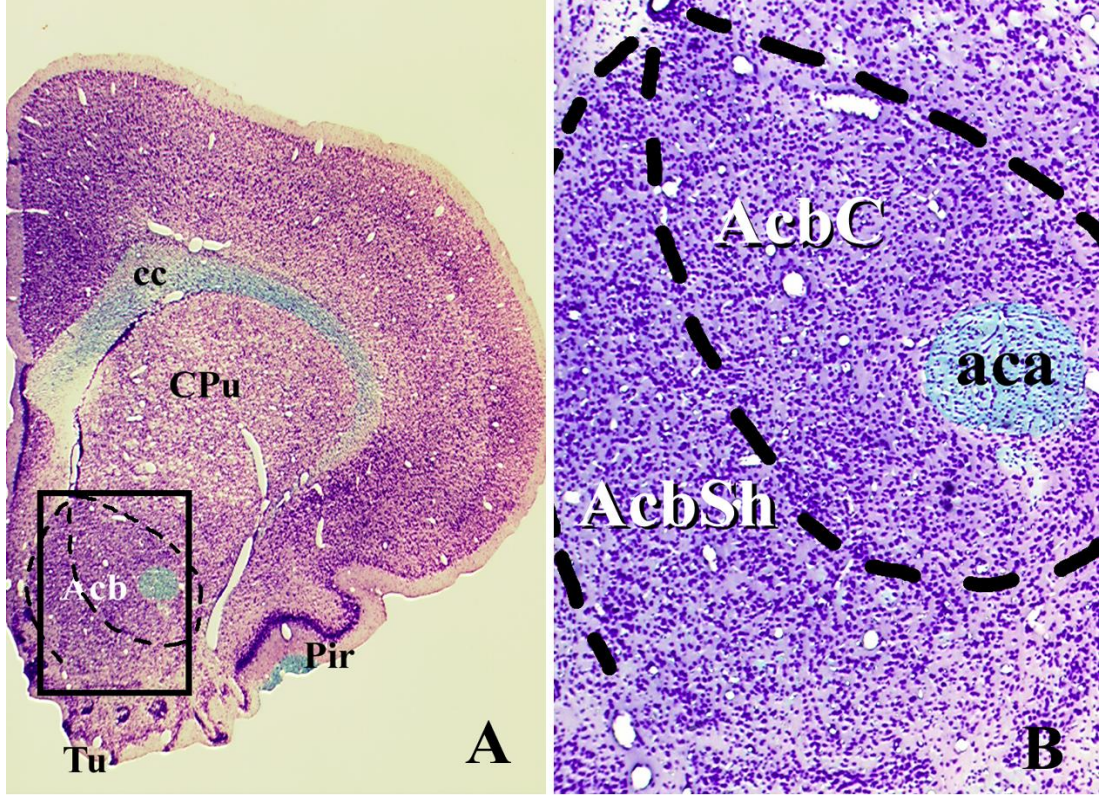


Şekil-1: İnsan beyninin şematik gösterimi ve çıkan dopaminerjik yolaklar. Substantia nigra (pars compacta A9), Ventral tegmental alan (VTA, 10) (1).

2.A.a. Nukleus akkumbens (NAK)

NAK duygusal ve lokomotor sistemler arasında bağlayıcı görevi olan heterojen yapıya sahip bir bölgedir. Fonksiyonel ve anatomik olarak iki bölüme ayrılmaktadır (Şekil-2, 21). Ventromedial alanında yer alan ve “shell” diye adlandırılan hücreler extended amygdala'nın bir parçası olup VTA'ya daha fazla projeksiyon göndermektedir. Laterodorsal'de yer alan ve “core” diye adlandırılan kısmı ise substantia nigra'ya daha güçlü projeksiyonlar vermektedir (11).

Opioid agonistleri kullanılarak yapılan in vivo mikrodializ çalışmalarında sistemik veya intraserebroventriküler yoldan verilen mü ve delta reseptör agonistlerinin NAK'te dopamin salıverilmesini arttırdıkları, kappa reseptör agonistlerinin ise dopamin salıverilmesini azalttığı gösterilmiştir (22). Opioid reseptör agonistleri VTA'daki GABAerjik internöronlar üzerinde yerleşmiş olan mü reseptörlerini uyararak buradaki nöronları hiperpolarize edip, GABA'nın dopamin hücre ateşlemesi üzerindeki inhibisyonunun ortadan kalkmasına neden olmaktadır. GABAerjik inhibitör tonusun ortadan kalkması sonucunda da NAK'teki dopamin salıverilmesinde artış meydana gelmektedir (23).



Şekil-2: Nucleus accumbens, shell ve core kısımlarının gösterimi. (cc, corpus callosum; CPu, caudate putamen; AcbC, core kısmı, AcbSh, shell kısmı; Tu, olfactory tubercle; Pir, piriform cortex; aca, anterior commissure. 21).

Diğer taraftan, morfin ve met-enkefalin kullanılarak yapılan ilaç kendine verme deneylerinde deneklerin NAK'e bu iki molekülü enjekte ettikleri gösterilmiş ve bunun VTA'daki etkilerden bağımsız olduğu ileri süren çalışmalar da yapılmıştır (24). Benzer şekilde bağımlılık yapan kokain ve amfetaminin de, periferik yoldan verildiklerinde NAK'te dopamin salınımını artırdığı gösterilmiştir (11).

2.A.a.1. Shell

Ödüllendirmede NAK'in shell kısmının öneminin daha fazla olduğu genel olarak kabul edilmektedir. Lokal intraserebral kendine verme çalışmalarında dopamine bağlı ödüllendirmede en hassas bölgenin NAK shell kısmı olduğu gösterilmiştir (25-27). Yine benzer metodoloji kullanılarak yapılan çalışmalarda, sıçanların amfetamin, kokain veya dopamin reseptör agonistlerini shell kısmına enjekte ederken, core kısmında böyle bir sonuç gözlenmemiştir (25, 26, 28, 29).

Koşullandırılmış yer tercihi deneylerinde shell kısmına mikroenjeksiyonla verilen dopaminerjik antagonistlerin nikotin ve morfine karşı gelişen yer tercihini engellediği gösterilmiştir (30, 31). İntravenöz kokain ve amfetaminle koşullandırılan sıçanlarda ise, shell kısmı lezyone edilen grupta koşullandırmanın daha fazla bozulduğu ortaya konmuştur (32, 33)

2.A.a.2. Core

NAK'in daha lateral ve dorsalde kalan kısmı core olarak adlandırılmakta ve bu bölge substantia nigra zona compactaya çok daha güçlü projeksiyonlar göndermektedir. İlaç arama davranışı gibi koşullandırılma durumlarında özellikle core kısmının rol oynadığı gösterilmiştir (34). Core kısmının, ödülle ilişkili uyaran ve bu durumla bağlantılı çağrışımları tamamladığı ve toplanan bu sinyalleri motor davranışlara çevirdiği düşünülmektedir (35).

2.A.b. Ventral Tegmental Alan

Ventral Tegmental alan (VTA) NAK'e dopaminerjik projeksiyonlar veren en önemli çekirdektir. Kokain ve amfetamine karşı duyarlılaşmanın (*sensitizasyonun*) VTA'da gerçekleştiği yapılan çalışmalarla gösterilmiştir. Tekrar eden intra-VTA enjeksiyonları amfetamin, kokain ve morfine karşı duyarlılaşmış motor cevaplara yol açmıştır (36, 37). Duyarlılaşma olayının VTA'dan NAK'e geçmesi, büyük bir olasılıkla dopamin nöronlarının ateşlenme oranında meydana gelen değişikliklerle ilişkilidir. Diğer taraftan bu aktarımda glutamatın da rol oynaması olasıdır (38, 39). Gerçekte VTA morfinin ödüllendirici etkilerinin lokalize olduğu yerdir. Yapılan çalışmalarda bu bölgeye enjekte edilen mü agonistlerinin buradaki GABA reseptörlerini inhibe ederek disinhibisyon yoluyla NAK'te dopamin salıverilmesini artırdıkları gösterilmiştir (23, 40, 41).

2.B. Amigdala

Duyguların dışa vurumu ve duygusal süreçlerde rol alan primer beyin bölgesidir. Birbirinden farklı köken ve fonksiyonlara sahip çekirdeklerden oluşan heterojen bir yapıya sahiptir. Bu yapı, son yıllarda extended amigdala diye tanımlanan ve beynin en eski oluşumlarından meydana gelen 3 bölgeyi içermektedir. Bunlar amigdala'nın santral çekirdeği, bed nucleus of stria

terminalis ve NAK'in shell kısmıdır. Dolayısı ile üzere amigdala NAK ile çok yakın nöral bağlantılar içerisindedir. Yapılan mikrodializ çalışmalarında suistimal edilen ilaçlar verildiğinde bed nucleus of stria terminalis bölgesinin de NAK kadar efektif bir dopamin transmisyonu gerçekleştirdiği gösterilmiştir (42).

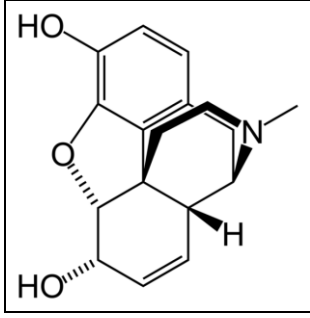
2.C. Prefrontal Korteks

Prefrontal korteks (PFC), amaca yönelik davranışların kognitif kontrolü ve başlanan olayların başarılı bir şekilde gerçekleştirilmesinde rol oynayan beyin bölgesidir (43). Özellikle amigdala ile PFC arasında karşılıklı nöral bağlantılar duygusal reaksiyonların kontrolünde görev almaktadır (44-47). Uyarana bağlı motor ve duygusal davranışların dışa vurumu PFC ve amigdaladan NAK'in shell kısmına gelen glutamaterjik afferentlerin kontrolü altındadır (48, 49).

3. Opioid Bağımlılığı ve Genel Özellikleri

3.A. Morfinin Yapısı ve Sistemler Üzerine Etkileri

Papaver somniferum, haşhaş/afyon bitkisi, opiyumun doğal olarak bulunan kaynağıdır. MÖ. 3.yy'da eski Yunan ve Roma uygarlıkları, güçlü etkilerini fark edip bu bitkiyi ağrı kesici olarak ve dizanteri tedavisi için kullanmışlardır. Orta çağ sonlarında Paracelsus opyum tentürünü geliştirmiştir. 1806'da eczacı Sertürner afyondan, güçlü bir alkaloid olan morfini (Şekil-3) izole etmiştir. Morfin ismi Yunan rüya tanrısı Morpheus'tan gelmektedir. Şırınganın 1853'te tıpta kullanılmaya başlaması ile morfinin ağrı kesici olarak kullanımı başlamıştır.



Şekil-3: Morfinin yapısı. (5 α ,6 α)-7,8-didehydro-4,5-epoxy-17-methyl morphinan-3,6-diol

Morfin ağrı tedavisi için son derece etkili olmakla beraber afyon gibi bağımlılık meydana getiren bir maddedir. Sonraki yıllarda ağrı kesici ve bağımlılık yapıcı etkilerini ayırabilmek için pek çok çalışma yapılmış, ancak bunların hiçbiri başarılı olamamıştır. Bu araştırmalar sonucunda eroin dahil 1900'e yakın yeni molekül üretilmiştir. Eroin morfinin yerine geçecek bağımlılık yapmayan ideal ilaç olarak tanıtılmış, buna karşın kullanıma girmesinden sonra morfinden daha güçlü bağımlılık yapma potansiyeli olduğu görülmüştür (50).

Afyon bitkisi morfin ve kodein başta olmak üzere 20'den fazla alkaloid içermektedir. Eroin ve diğer yarı sentetik opiyatlar morfinin işlenmesi ile elde edilir. Doğal ya da sentetik olsun, opiyum-morfin benzeri etki gösteren opiyatlar gerçekte vücuttaki endojen opioid peptidleri (endorfinler, enkefalinler, dinorfinler) taklit eden maddelerdir.

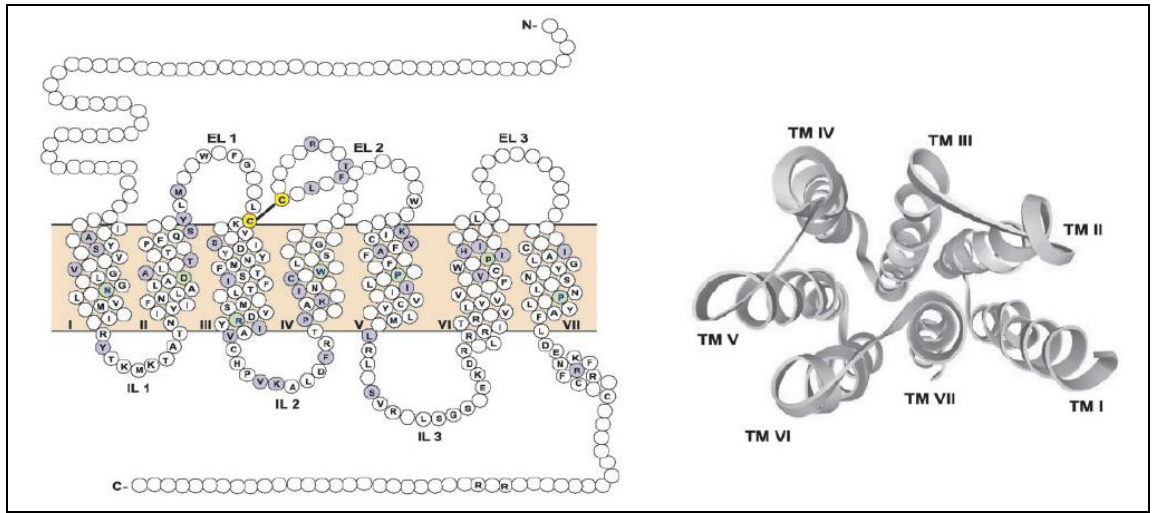
Muköz membranlardan emilimi iyi olan morfin, en sık subkutanöz enjeksiyon yolu ile kullanılır. Beyne çok az bir kısmı ulaşmasına rağmen en önemli etkilerini beyinde gösterir. Başlıca atılım yolu böbreklerdir. Verilen morfinin büyük bir kısmı 24 saat içinde idrarda bulunur. Karaciğerde glukronik asit ile kombine edilerek morfin-3-glukoronid ve aktif metaboliti olan morfin-6-glukronite, az bir oranda da morfin-3-sülfat ve normorfine dönüşür (51, 52).

3.B. Opioid Reseptörleri ve Genel Özellikleri

Morfin-benzeri ilaçlara spesifik reseptörler ilk olarak 1967 yılında öne sürülmüş ve 1973'te kendilerine ait stereospesifik bağlanma bölgeleri gösterilmiştir (53). Opioid reseptörlerin keşfinden sonra bu reseptörlere ait endojen ligandlar olan met-leu enkefalin tanımlanmıştır (54).

Bugüne kadar tanımlanmış 3 tane klasik opioid reseptörü bulunmaktadır. Bu reseptörlerin isimlendirilmesi MOP (morfin için mu), KOP (ketosiklazosin için kappa), DOP (ilk olarak fare vas deferensinde gösterildiği için delta) (55) reseptörü şeklindedir. Yapılan genetik araştırmalarda bu reseptörlerle yüksek derecede homoloji gösteren bir reseptör bulunmuş ve bu reseptör opioid reseptör benzeri (opioid receptor like, ORL, NOP-R veya nosiseptinin/orfanin FQ) olarak adlandırılmıştır (56).

Opioid reseptörler beyin ve spinal kordda yerleşim göstermektedir. Beyinde mü reseptörlerinin en yüksek yoğunlukta bulunduğu bölgeler talamus ve periaquaduktal greydir (57-59).



Şekil-4: Yedi transmembranlı yapıya sahip opioid reseptörlerinin yapısı.

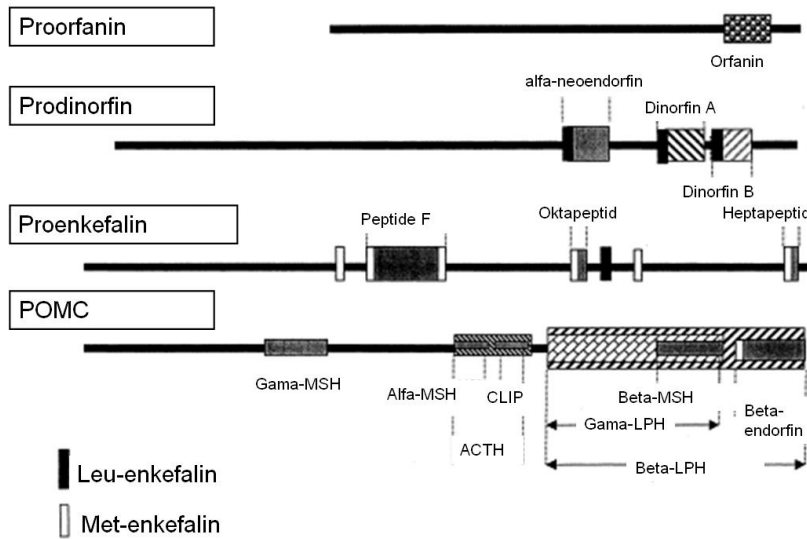
Bütün opioid reseptörleri yedi transmembranlı G-proteini ile kenetli (G protein-coupled receptors [GPCRs]) yapıya sahiptir (Şekil-4). G proteini ise, hücre içerisinde adenilat siklazı inhibe eden Gi yapısındadır.

3.C. Endojen Opioid Peptidlerin Genel Yapısı, Özellikleri ve Etkileri

Endojen opioidlerin varlığına ilişkin ilk bilgiler beyin ekstraktlarının opioid-benzeri aktivite göstermeleri ile elde edilmiştir (60, 61). İlerleyen çalışmalarda beş aminoasitten oluşan iki tane peptid izole edilmiş ve yunanca 'beyinde' anlamına gelen enkefalin olarak isimlendirilmiştir (54).

Daha sonraları pitüiter hormon beta-lipotropinin C-fragmanı gösterilmiş ve bu da beta-endorfin olarak adlandırılmıştır (62).

Yapılan *in vitro* ve *in vivo* çalışmalarda enkefalinlerin ve beta-endorfinin morfine benzer etkileri olduğu gösterilmiştir (24, 63, 64). Deney hayvanlarında yapılan ilaç kendine verme deneylerinde, deneklerin bu iki molekülüne kendilerine enjekte etmeleri, söz konusu peptidlerin ödüllendirici etkileri ve bağımlılık potansiyelleri olabileceğini işaret etmiştir (24, 63, 64). Diğer bir grup endojen opioid ailesi olan dinorfinlerin gösterilmesinden sonra (65), endojen opioidlerin prekürsör moleküllerden enzimatik yıkım ile oluştuğu bildirilmiştir (66, 67). Pro-opiomelanokortin (POMC), pro-enkefalin (*ProEnk*) ve pro-dinorfin (*ProDyn*) sırasıyla beta-endorfin, enkefalinler ve dinorfinlerin sentezinden sorumlu prekürsörlerdir (Şekil-5). Diğer taraftan bu prekürsör moleküllerden her biri beyinde kendilerine özgü anatomik bir dağılım göstermektedir (68, 69).



Şekil-5: Endojen opioid peptidlerin prekürsör molekülleri.

Endojen opioid ligandlar opioid reseptörlere farklı seçicilikle bağlanma özelliklerine sahiptir. Beta-endorfinin mü reseptörlerine olan afinitesi diğer reseptörlere olduğundan çok daha yüksektir. Bu nedenle beta-endorfinin mü reseptör tipi için endojen ligand olduğu düşünülmektedir (70). Enkefalinlerin delta reseptörlere olan afinitesinin mü reseptörlerine göre 20 kat fazla

olduğu, dinorfinin ise kappa reseptörlerinin endojen ligandı olduğu tahmin edilmektedir (71, 72).

31 Amino asitten oluşan beta endorfini sentezleyen başlıca nöronlar hipofizin anterior ve nörointermediyer lobu, hipotalamusun arkuat nukleusu ve nukleus traktus solitarius'tur. Bu hücreler ödüllendirme sürecinde önemli yere sahip olan VTA ve NAK'te sonlanmaktadır (73). Yapılan çalışmalarda söz konusu peptidin özellikle stress, obezite, diyabet ve immün yanıtlarla ilişkili olduğu gösterilmiştir (74-76). SSS'de nörotransmitter görevi gören beta-endorfinin alkolizm ve psikiyatrik hastalıklarda da rol oynadığı sanılmaktadır (77, 78).

Farklı beyin bölgeleri ve BOS'a (beyin-omirilik sıvısı) verilen beta endorfin morfinden çok daha güçlü analjezik etki gösterir (79-81). Tekrar eden enjeksiyonlar sonrasında ise analjezik etkisine tolerans geliştiği ve nalokson verilmesi ile morfin benzeri yoksunluk sendromu semptomlarının olduğu bildirilmiştir (82). Sıçanların beynine direkt olarak verildiğinde ise ödüllendirici ve pekiştirici özellikleri gösterilmiştir (17, 64, 83, 84).

3.C.a. Gly-Gln'in yapısı ve özellikleri

Şekil-6'da gösterildiği gibi, proteolitik parçalanma sonucu beta endorfinden daha küçük moleküller meydana gelmektedir (85); bunlar beta-endorfin₁₋₂₆, beta-endorfin₁₋₂₇ ve Gly-Gln dir.

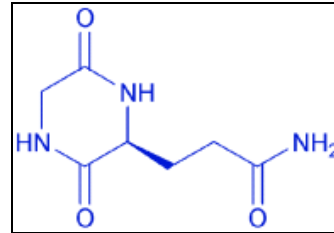
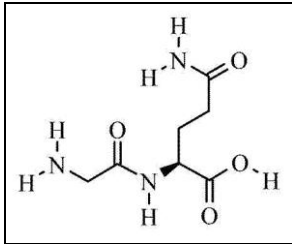


Şekil-6: Beta endorfin'in proteolitik parçalanması sonucu açığa çıkan Gly-Gln.

Bu yıkım ürünlerinden beta-endorfin₁₋₂₇'nin, beta-endorfin ve etorfin'in neden olduğu analjeziyi antagonize ettiği gösterilmiştir (86, 87). Beta

endorfin₁₋₂₇ ile yapılan diğer çalışmalarda ise, opioidlerin ödüllendirici etkilerini antagonize ettiği (88) ve beta-endorfin'in NAK'te yol açtığı dopamin salıverilmesini inhibe ettiği rapor edilmiştir (89).

Beta-endorfin₁₋₂₇'nin beta endorfinin etkilerini antagonize etmesi diğer bir yıkım ürünü olan Gly-Gln'in de benzer etkiler gösterebileceği düşüncesini doğurmuştur. Sonrasında yapılan çalışmalarda, sıçanlarda beyin kökü nöronlarına iyontoforetik olarak uygulanan Gly-Gln'in hücre ateşlemesi üzerine inhibitör etkisi olduğu gösterilmiş ve bu yıkım ürününün inhibitör özellikte bir peptid olabileceği ileri sürülmüştür (90). Devam eden çalışmalar özellikle POMC ve beta-endorfin üzerinde yoğunlaşmıştır. Gly-Gln'in, POMC yıkım ürünlerinden olan α -MSH'in yol açtığı termogenezi antagonize ettiği (91), beta-endorfinin neden olduğu kardiyorespiratuar depresyonu ortadan kaldırdığı bildirilmiştir (92). Benzer şekilde, Gly-Gln ve kan beyin bariyerini geçebilen siklik formu siklo (Gly-Gln)'in (Şekil-7) beta-endorfin ve morfinin yol açtığı kardiyorespiratuar depresyonu ortadan kaldırdığı gösterilmiştir (92). Gly-Gln'in morfin kullanımı sonrasında ortaya çıkan bu yan etkileri onun analjezik etkisin değiştirmeksizin ortadan kaldırılması, beta-endorfinden türeyen bu dipeptidin terapötik potansiyeli açısından oldukça önemlidir (3).



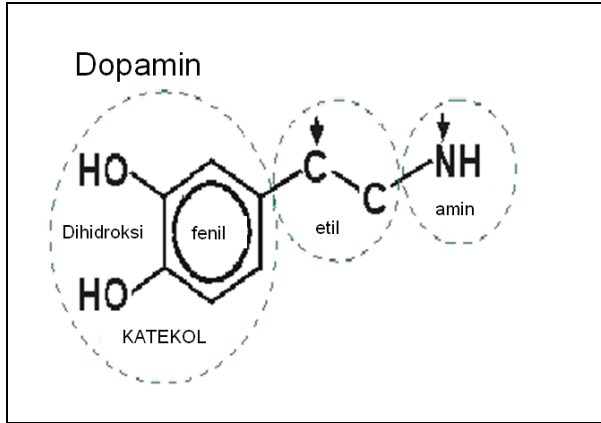
Şekil-7: Gly-Gln ve siklo Gly-Gln'in moleküler yapısı.

Gly-Gln'in bağımlılık yapan maddeler üzerine olan etkilerini gösteren ilk çalışmalar, alkol üzerine olan etkilerinin araştırılması ile başlamıştır. Santral yoldan verilen beta-endorfinin alkol alımını arttırdığı ve Gly-Gln'in söz konusu bu alkol alımını azalttığı çeşitli çalışmalarda ortaya konmuştur (6, 7, 8, 93).

Bağımlılık yapıcı etkisi bulunan nikotin ve morfin ile yapılan çalışmalarda da Gly-Gln'in bu maddelere karşı gelişen ödüllendirme ve yoksunluk bulgularını engellediği gösterilmiştir (4, 5). İlk olarak morfin ile yapılan çalışmalarda, Gly-Gln'in morfinin neden olduğu koşullandırılmış yer tercihinin engellediği, bağımlılık ve tolerans gelişmesini baskıladığı ve yoksunluk semptomlarını azalttığı gösterilmiştir (4). Nikotin ile yapılan çalışmalarda ise, koşullandırılmış yer tercihi ve yoksunluk sendromunu önlediği ortaya konmuştur (5).

4. Dopamin

Beyinde dopamin reseptörlerini aktive ederek nörotransmitter görevi yapan endojen bir moleküldür (Şekil-8). Dopaminerjik sinir uçlarından başka hipotalamustan da salgılanır ve buradan kana karışarak nörohormon rolü oynar. Nörohormon olarak başlıca görevi hipofizin ön lobundan prolaktin salgılanmasını baskılamaktır.



Şekil-8: Dopaminin (4-(2-aminoethyl)benzene-1,2-diol) moleküler yapısı.

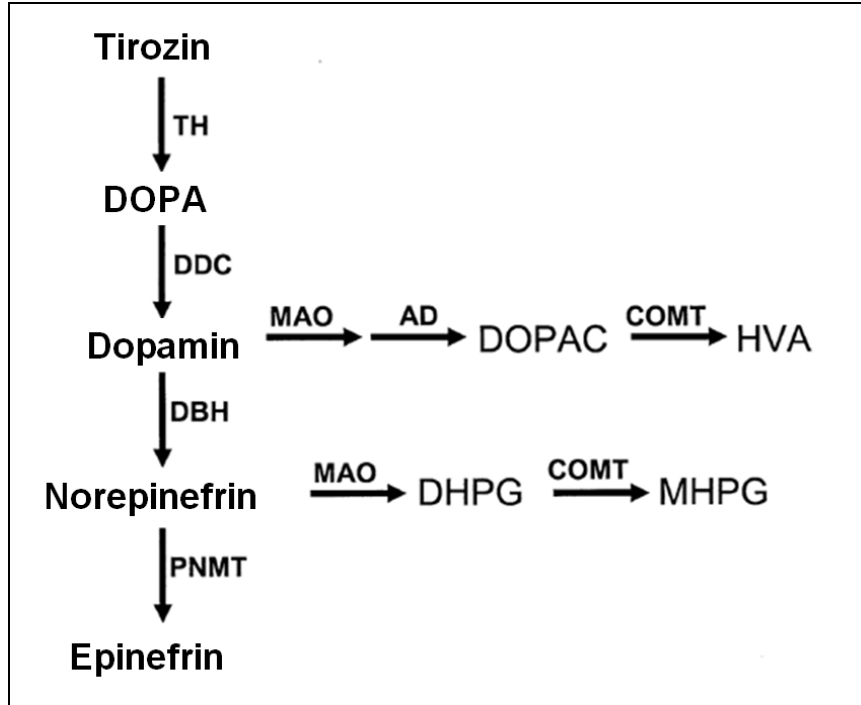
Beyindeki dopaminerjik nöronlar toplam nöronların %1'inden daha azını meydana getirmesine rağmen, bazı temel beyin fonksiyonlarının yerine getirilmesinde dopaminin önemi oldukça fazladır. Motor davranış, motivasyon (güdülenme) ve hafıza oluşumunda yer alan başlıca nörotransmitter dopamindir. Diğer taraftan dopaminerjik sistem belirli davranışların

öğrenilmesini kontrol eden ödüllendirme sisteminde de kritik rol oynamaktadır (94).

4.A. Dopamin Sentezi, Salınımı ve Yıkımı

Dopamin tirozin amino asidinden sentezlenmektedir. Tirozin, sentezin ilk aşamasında hız kısıtlayıcı bir enzim olan tirozin hidrosilaz aracılığı ile hidrosillenerek DOPA'ya (dihidroksifenil alanin) dönüştürülür. Hidrosilasyon tepkimesinde elektron verici koenzim olarak tetrahidrobiopterin kullanılır. DOPA, sitoplazmik bir enzim olan dopa-dekarboksilaz tarafından dopamin'e (dihidroksi fenilettilamin) dekarboksile edilir. Dopaminin hormon ya da nörotransmitter olarak kullanıldığı hücrelerde katekolaminlerin sentezi burada tamamlanır ve sentezlenen dopamin veziküllerinde depolanır.

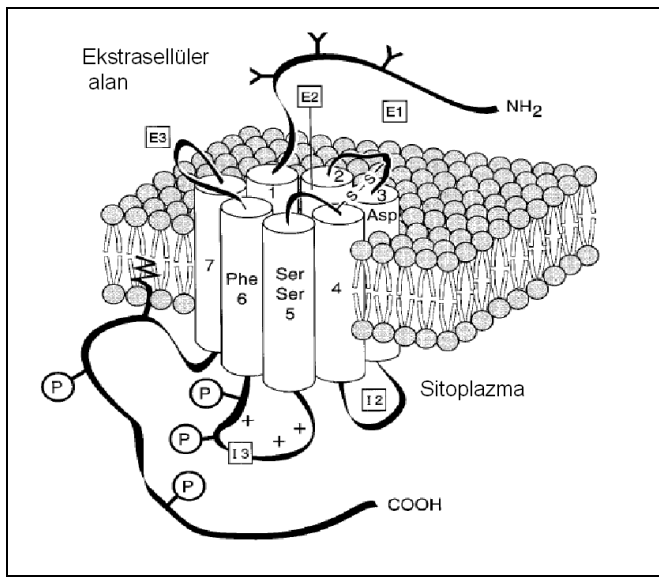
Dopaminerjik nöronlardaki dopamin sitozolde ardışık iki reaksiyonla yıkıma uğramaktadır (Şekil-9). İlk olarak monoamin oksidaz (MAO) ile 3,4-dihydroxyphenylacetic acid (DOPAC)'e dönüşür. Sonrasında hücre dışına difüze olan DOPAC katekol-o-metil transferaz (KOMT) ile homovalinik aside (HVA) dönüşür veya glukronil ile konjuge edilir (95-97). KOMT sadece hücre dışında bulunurken MAO'nun ancak bir kısmı nöron dışında lokalizedir.



Şekil-9: Dopaminin sentezi ve yıkımı (TH: tirozin hidrosilaz; DDC: dopa dekarboksilaz; MAO: monoamin oksidaz; AD: aldehit dehidrogenaz; COMT: katekol-o-metil transferaz; HVA: homovalinik asit; DBH: dopamin beta-hidrosilaz; DHPG: dihidroksifenilglikol; MHPG: metoksihidrofenilglikol; PNMT: feniletanolamin-N-metil transferaz.

4.B. Dopamin Reseptörleri ve Etkileri

Dopamin reseptörleri D1 ve D2 ailesi olarak iki alt grupta sınıflandırılmaktadır. D1 ailesinde D1 ve D5 alt reseptör tipleri, D2 ailesinde ise D2, D3, ve D4 alt tipleri bulunmaktadır. Her iki grup reseptör de 7 transmembran bölgesi bulunan G proteinleri ile kenetli reseptör yapısındadır (Şekil-10). D1 alt tipi Gs ile kenetli olup hücre içerisinde adenilet siklazı aktive ederken, D2 grubu Gi ile kenetlidir ve hücre içerisinde adenilat siklazı inhibe ederek etkisini göstermektedir (98).



Şekil-10: Dopamin reseptörlerinin yapısı.

D1 ve D2 reseptörlerinin dopaminin innerve ettiği beyin bölgelerinden özellikle dorsal striatum, NAK ve olfaktor tüberküle yoğun bir şekilde eksprese olduğu gösterilmiştir (99). D1 ve D2 reseptör dansiteleri septum, hipotalamus ve kortekste düşük; hipokampüste ise çok daha düşük düzeydedir (100). D3 reseptörlerinin mRNA'ları olfaktor tüberkül, island of Cajella ile rostral ve ventromedial NAK shell medium spiny nöronlarda olduğu ve bu bölgelerde D1 reseptörlerinin dinorfin ve substance P mRNA ile beraber eksprese olduğu gösterilmiştir (101-103). D3 reseptör mRNA'ları ayrıca VTA, amigdala, hipokampus, septum ve hipotalamusun mamiller çekirdeğinde de gösterilmiştir (99, 102). Diğer nörotransmitter ve reseptörleri ile etkileşimde NAK'te özellikle glutamaterjik NMDA reseptörleri ile D1

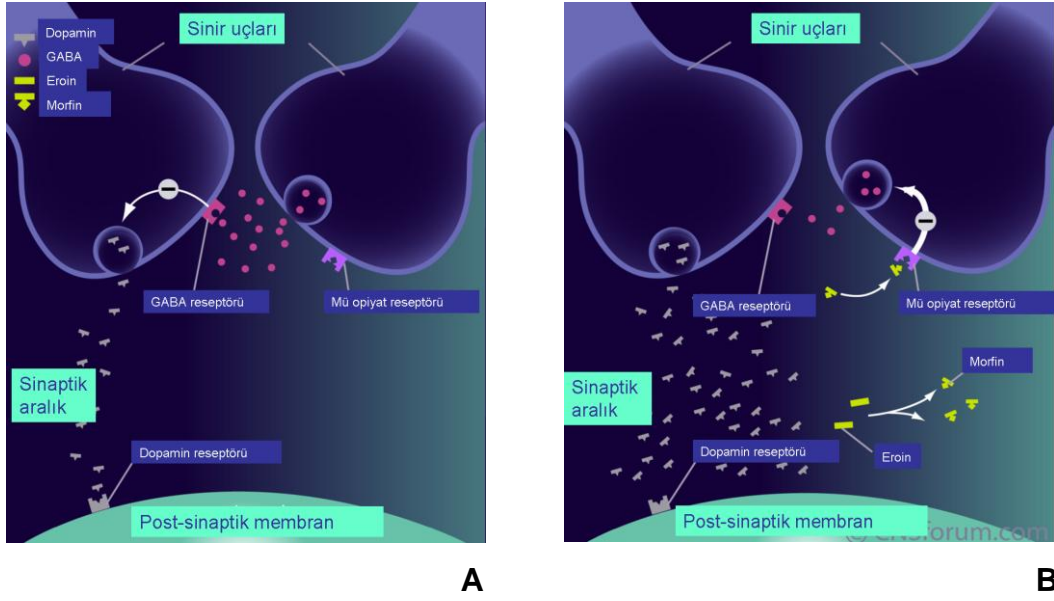
reseptörlerinin hedefe yönelik davranışlarda birlikte rol oynadığını gösteren çalışmalar mevcuttur (104).

Mezolimik dopamin saliverilmesine neden olan intrakranyal self stimülasyonunda D1 ve D2 reseptörlerinin her ikisinin de rol oynadığı gösterilmiştir (105, 106). İlaç kendine verme deneylerinde de ilaçların ödüllendirici özelliklerinde hem D1 hem de D2 reseptörlerinin rol aldığı rapor edilmiştir (107).

4.C. Bağımlılıkta Dopaminin Rolü

Bağımlılık oluşturan maddelerin ilişkili olduğu nörokimyasal sistemler arasında mezokortikolimbik yolak ile ilişkisi de göz önüne alındığında dopamin ve dopaminerjik sistem şüphesiz özel bir öneme sahiptir. Yapılan birçok deneysel çalışmada dopaminin ödüllendirme ve pozitif pekiştirici olaylarına aracılık ettiğini düşündüren veriler elde edilmiştir (108).

Opioidlerin ödüllendirici etkilerinin teşvik edici (*incentive*) ve tamamlayıcı (*consumatory*) olmak üzere iki fazı tanımlanmıştır. Teşvik edici fazda dopaminin rolü net bir şekilde ortaya konmuştur (109). Alkol, kokain ve diğer psikostimülan özellikli bağımlılık yapıcı maddelerin ödüllendirici ve pozitif pekiştirici etkilerinde de mezokortiko- limbik yolak ve dopaminin önemli bir rolü olduğunu gösteren bulgular vardır (17, 110). Sıçan, primatlar ve insanlarda yapılan mikrodializ ve PET çalışmalarında bağımlılık yapan ilaçların NAK'te ekstrasellüler dopamin düzeylerini artırdığı gösterilmiştir (42).



Şekil-11: Morfin sonrası VTA'da dopamin salınımı. A: Bazal şartlar, B: Morfin sonrası.

Ventriküler infüzyonla verilen beta endorfin NAK'te mü ve delta opioid reseptörler üzerinden dopamin salıverilmesini artırmaktadır (111). Bu artmış dopamin salıverilmesini beta endorfinin inhibitör GABA üzerindeki dopaminerjik nöronlarına bağlıdır (19). Beta endorfinin neden olduğu koşullandırılmış yer tercihinin NAK'teki dopamin salınımı ile pozitif korelasyon gösterdiği bulunmuştur (89). Eksojen olarak verilen morfin ve eroin gibi opioid agonistleri de bu mekanizma ile etkilerini göstermektedir (Şekil-11).

Morfin uygulamasını sonrası NAK'te intrasinaptik dopamin düzeylerini artırmakta, takiben D1 ve D2 reseptörleri üzerinden ödüllendirme ve pekiştirici yönde davranışsal olaylara neden olmaktadır (112, 113). Yapılan birçok araştırma sonucunda D1 ve D2 reseptör alt tiplerinin bağımlılıktaki rolleri bakımından etkinliği ve aracılığı açık bir şekilde ortaya koyulmuş durumda iken (25, 114-117), D3 reseptörlerinin buradaki rolleri henüz net olarak aydınlatılamamıştır (113, 118). NAK'de yer alan nöronların %95'i iğne uçlu (spiny) GABAerjik nöronlardır (118-120) ve bu nöronların da büyük oranda internöronlarla bağlantılı olduğu gösterilmiştir (121, 122). NAK'teki aktif rolleri dikkate alındığında dopamin reseptörleri arasında da özellikle D1 reseptörlerinin GABA nöronları ile yoğun ilişkileri olduğunu gösteren

çalışmalar mevcuttur (114, 118, 123). Belirli bir spiny GABAerjik nörona gelen bu internöronların 3'te 2'sinin diğer spiny GABAerjik nöronlardan geldiği iddia edilmektedir (124). Bu alana gelen dopaminerjik uyarılar bu nöronlar üzerinde düzenleyici etkiye göstermektedir (118). Guzman ve ark.'nın (124) yapmış olduğu çalışmada bu intrinsik sinapsların D1 agonistleri tarafından artırıcı yönde, D2 agonistleri tarafından ise inhibe edildiği bulunmuştur. Mizuno ve ark.'nın (118) yaptığı çalışmada da benzer sonuçlar bulunmuş, bu sonuçlara ilave olarak D3 reseptörlerinin her iki yönde de etkilerinin olduğu gösterilmiştir.

Dopaminerjik sistemin ödüllendirme ile ilişkisinde dopamin reseptörleri özellikle de D2 reseptörleri önemli bir yere sahiptir. Bu reseptörlerin özellikle madde bağımlılığını ilgilendiren ödüllendirmenin genetik zemininde de önemli bir katkıya sahip olduğu yolunda araştırma sonuçları yayınlanmıştır. Bu araştırmaların çoğunda ortak vurgu, dopamin D2 reseptör eksikliği sonucu ödüllendirmeye duyarlılıkta bir azalma olduğu şeklindedir. Son zamanlarda madde bağımlılığının bir "ödül eksikliği sendromu" olabileceği şeklinde görüş bildiren verilerde artışlar gözlenmektedir (125-127).

Ödül eksikliği sendromunun bazal gangliyonlar, başta NAK olmak üzere mezolimbik beyin bölgeleri, prefrontal korteks, hipotalamus ve amigdala gibi limbik sistemin önemli parçalarını da kapsayan geniş bir beyin alanları ile ilişkili olduğu ileri sürülmüştür (127). Bu beyin bölgelerinde dopamin dışında başka nörotransmitterler ve bunlara ait reseptörler de yer almaktadır.

5. Bağımlılıkta diğer nörotransmitterlerin rolü:

5.A. Serotonin (5-Hidroksitriptamin, 5-HT)

Serotonin antagonistlerinin yeme içme davranışının yanısıra alkol gibi bazı bağımlılık yapıcı maddelerin tüketimini veya tercihini azalttığı yolunda bazı yayınlar yapılmıştır. Bununla beraber serotoninin bağımlılık gelişimindeki rolü dopamin kadar açık bir şekilde ortaya konamamıştır. Buna karşın deney hayvanlarında yapılan bazı çalışmaların sonuçları beynin çeşitli bölgelerinde

kronik etanol kullanımı ve etanol yoksunluk sendromu döneminde serotonerjik döngüde (turnover) önemli değişiklikler olduğuna işaret etmektedir (128, 129). Bu bulguların ışığında serotoninin de ilaç arama davranışı üzerinde direkt veya modüle edici etkiler göstermesi şaşırtıcı olmayacaktır .

Opioidlerle yapılan çalışmalarda serotonerjik iletide rol alan bazı beyin bölgelerinin önemli rolü olduğu ortaya konmuştur. Dorsal raphe nukleusu (DRN) NAK'e gelen serotonerjik projeksiyonların ana kaynağıdır (130) ve opioidlerin davranışsal etkilerinde rol almaktadır (131). Opioidlerin NAK'te ve DRN'nun innerve ettiği diğer alanlarda ekstrasellüler 5-HT düzeylerini artırdığı yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (132, 133). Endojen opioidler ve opioid reseptörlerin DRN'nda ve çevresindeki periakvaduktal grey bölgesinde ekprese olduğu gösterilmiştir (57-59).

5-HT'nin nukleus akkumbenste dopamin saliverilmesini stimule ettiği gösterilmiştir (134-136). Morfinin ödüllendirici etkileri ve yoksunluk sendromunun 5-HT reseptör ligandları tarafından etkilenmesi, serotoninin opiyat bağımlılığında rol oynadığı hipotezini desteklemektedir (137-139).

5.B. Gama Amino Bütirik Asit (GABA)'ın Rolü

GABA bilindiği gibi santral sinir sisteminde en yaygın inhibitör nörotransmitterdir. GABA nöronal düzeyde hücre içine Cl⁻ girişini artırır ve elektrofizyolojik düzeyde bir postsinaptik inhibisyon yapar (108).

GABA nöronları iki ana formda görülmektedir. Bunlar aynı beyin bölgesinde bulunan lokal internöronlar ve diğer beyin bölgelerine projeksiyonlar gönderen orta veya uzun nöronlardır. NAK'teki GABAerjik medium spiny nöronlar Ventral Pallidum (VP) ve VTA'a projeksiyonlar göndermektedir. Bağımlılık yapan çoğu ilacın amfetamin, kokain, morfin ve marihuana dahil olmak üzere sıçanlarda VP'da GABA saliverilmesini azaltığı gösterilmiştir (140, 141).

GABA ve GABAerjik sistemde oluşan adaptasyonların özellikle alkol ve sedatif- hipnotik ilaçlara karşı gelişen fiziksel bağımlılıkta rolü olduğuna işaret eden çalışmalar yapılmıştır. GABA'nın opioidler ile olan etkileşimi yapılan çalışmalarda ortaya konmuştur. VTA'daki μ reseptörlerinin GABAerjik

internöronlarda yerleşim göstermektedir. Sistemik veya iyontoforetik olarak VTA'ya morfin uygulandığında GABAerjik internöronların ateşleme oranının azaldığı ve takiben dopamin nöronlarının ateşleme oranının arttığı gösterilmiştir (23, 142-145).

NAK'te bulunan medium spiny GABAerjik nöronların yoğunluğu ve GABA'nın dopamin ile ilişkisi göz önüne alındığında GABA bağımlılıkta önemli bir yer tutmaktadır.

5.C. Glutamat'ın Rolü

Glutamat santral sinir sisteminde en fazla yer alan eksitatör nörotransmitterdir (146). Beynin belirli bölgelerinde bulunan başlıca glutamaterjik projeksiyonlardan ilki korteks ile talamus arasında, diğeri korteks ile striatum arasında yer almaktadır. Diğer glutamat içeren yollar korteksten amigdala, talamus, hipokampusu uzanmaktadır (147).

Bağımlılıkta glutamatın önemi anatomik olarak da mezokortikal dopaminerjik nöronların glutamat projeksiyonları alması ve glutamat reseptörleri eksprese etmesi ile desteklenmektedir (148-152). Özellikle prefrontal korteksten gelen glutamaterjik projeksiyonlar bağımlıdaki rolü açısından son derece önemlidir. NAK shell kısmı VTA'dan dopaminerjik projeksiyonlar alırken, core kısmı başlıca hipokampus ve amigdaladan eksitatör glutamaterjik projeksiyonlar almaktadır (153-156).

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma Uludağ Üniversitesi Hayvan Bakımı ve Kullanımı Etik Komitesi tarafından onaylanmıştır (15.03.2006/5). Çalışmada 300-350 g ağırlığında, Sprague Dawley türü erkek sıçanlar (Deney Hayvanları Yetiştirme ve Araştırma Merkezi, Uludağ Üniversitesi, Bursa) kullanıldı. Sıçanlar cerrahi işleme alınmadan en az bir hafta önce yetiştirildikleri deney hayvanları merkezinden alınıp sıcaklığı 22-24°C olan ve 12 saat aydınlık/karanlık olacak şekilde ışıklandırma döngüsü bulunan bir odada yem ile su alımları serbest bırakılarak dört tanesi bir kafese tutuldular.

1. Cerrahi

NAk shell kısmına (sağ) mikrodializ işlemlerini gerçekleştirmek amacıyla mikrodializ probu, lateral ventriküle (sol) intraserebroventriküler (i.s.v.) enjeksiyonlar için intraserebroventriküler kanül ve morfin enjeksiyonu için intraperitoneal (i.p.) kanül yerleştirildi. İ.P. kanül için hafif eter anestezisi altında sıçan sağ tarafına yan yatırılarak karın bölgesinin sol orta kısmına (karaciğer hasarı vermemek için) PE50 tüp yerleştirilip sabitlendi. Sıçan ayılmadan hemen sonrasında kafa derisi tıraşlandı ve sevofluran (%2-4, %100 O₂ içinde) anestezisi altında mikrodializ probu ve i.s.v. kanül implante etmek amacıyla stereotaksik alet üzerine yerleştirildi. Sıçanın kafası uygun bir şekilde sabitlenip hafif bir insizyon ile kafa derisi sağa ve sola doğru açılarak kafa kemiğinin ve bregma noktasının ortaya çıkması sağlandı (Şekil-12). Bregma noktası referans alınarak, Paxinos Watson (157) sıçan beyin atlasına göre belirlenen koordinatlar [Nukleus akkumbens için: + 1.8 mm (ön-arka), - 1.0 mm (yan), - 7.5 mm (derinlik); Lateral ventrikül için: - 0.9 mm (ön-arka), - 1.5 mm (yan), - 4.0 mm (derinlik)], saptanarak işaretlendi. Bu noktalardan küçük el matkabı yardımı ile beyne hasar vermeksizin delikler açıldı. Dializ edilmeye başlanan mikrodializ probu stereotaksik alet üzerine yerleştirilerek çok yavaş bir hızla bu açılan delikten geçirilerek, dializ

edilecek NAK shell bölgesine ulaşıldı. Sonrasında kılavuz kanül de lateral ventriküle ulaşacak şekilde yerleştirildi. Bu yerleştirme sonrası prob ve kılavuz kanül dışı akriliği ve küçük vidalar kullanılarak kafatasına sabitlendi. Akriliğin kuruması beklenip diyaliz probunun stereotaksik frame ile olan bağlantısı kesildi ve sıçan frame üzerinden kaldırılarak tek olacak şekilde kafesine yerleştirildi. Sıçanın anesteziden çıkması için 24 saat beklendikten sonra deneyler gerçekleştirildi.



Şekil-12: Sıçanın stereotaksik alete yerleştirilmiş hali. Bregma noktasının bulunup Nukleus akkumbens ve Lateral ventrikül koordinatlarının hesaplanması, kılavuz kanül ve intraserebroventriküler kanül yerleştirilmesi.

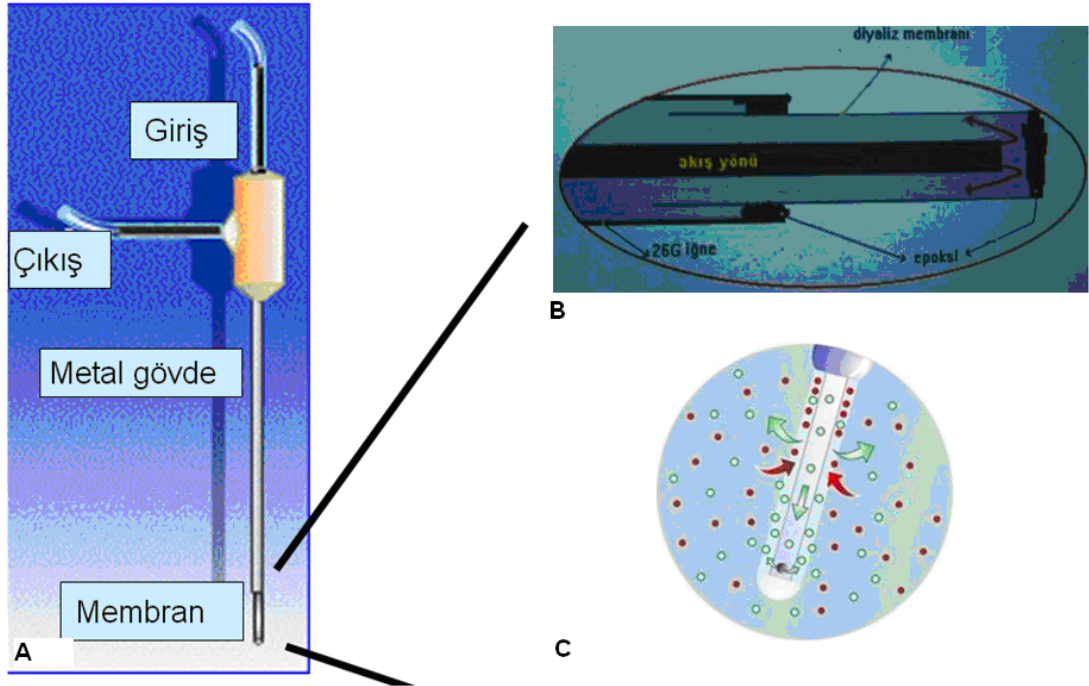
2. Mikrodializ

Mikrodializ yöntemi kullanılarak beyin ve diğer bazı organların çeşitli bölgelerinde ekstrasellüler ortamda endojen madde miktarları ölçülebilir. Mikrodializ prensip olarak basit difüzyon kuralına dayanan bir yöntemdir. Basit difüzyonunda sıvı içindeki çözülmüş maddelerin yarı geçirgen bir zardan çok yoğun oldukları ortamdaki, az yoğun oldukları ortama geçmeleri söz konusudur. İn vivo beyin mikrodializinde, beyinde bulunan ancak kullanılan diyaliz sıvısında olmayan maddeler yarı geçirgen membranı difüzyon ile geçerek toplanan örneklerle (diyalizat) geçerler. Elde edilen

örneklerde ölçülmek istenen endojen moleküller HPLC ve kapiller elektroforez gibi son derece hassas ölçüm sistemleri kullanılarak değerlendirilir. Sistemik ilaç verilmesi veya diyaliz sıvısına ilaç eklenmesi sonrası, incelenen beyin bölgesindeki nörotransmitter ve metabolitleri üzerindeki etkileri gözlenebilir.

2.A. Akut dönemde kullanılan mikrodiyaliz probu

Bölümümüzde geliştirilen ve kendi yaptığımız problarla (Şekil-13) çalışmalarımızı gerçekleştirdik. Bu aşamada kullanılan araçlar PPD iğne uçları (26 Gauge), kapiller boru (OD 165, ID 99, Polymicro), epoksi yapıştırıcı, plastik çubuklar ve el matkabı.



Şekil-13: A Diyaliz probunun şematik gösterimi. B-C Kapiller ve membran arasından sıvının geçişi ve diyalizatın toplanması.

2.B. Kronik Dönemde Kullanılan Mikrodiyaliz Probu

Çalışmaların bu aşamasında ilk olarak kronik kanülasyon ve sonrasında NAK bölgesinde mikrodiyaliz işlemi gerçekleştirebilmek amacıyla kılavuz mikrodiyaliz kanülü ve bu kılavuz kanüle uyan mikrodiyaliz probu geliştirildi. Kılavuz kanül ve mikrodiyaliz probunun geliştirilme aşamaları ve son hali aşağıdaki şekillerde gösterilmiştir (Şekil-14).



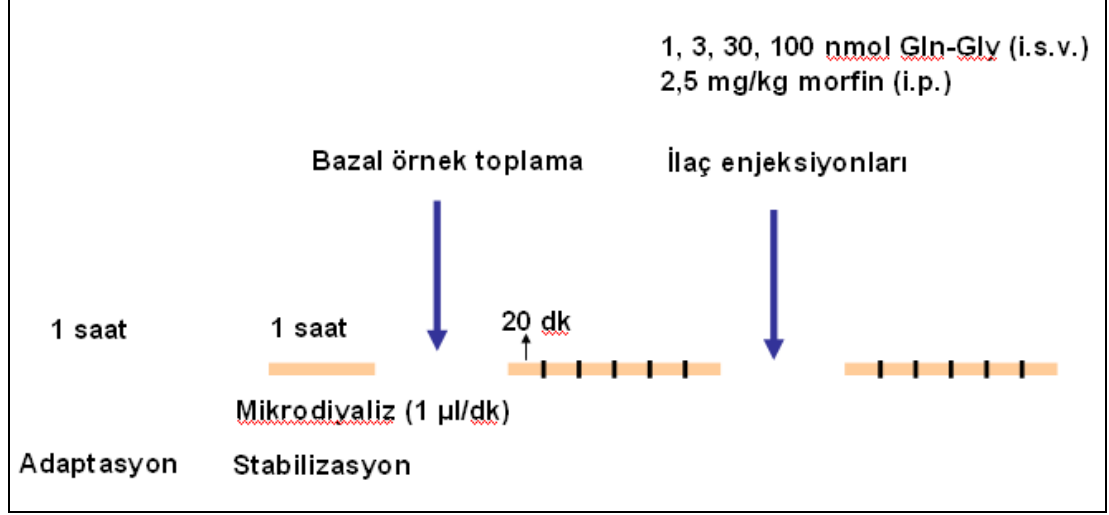
Şekil-14: Mikrodiyaliz probu ve Mikrodiyaliz kılavuz kanülünün son şekli. Şeklin üst kısmında yer alan Mikrodiyaliz probu, orta kısmında yer alan Mikrodiyaliz kılavuz kanülü, en altta yer alan ikisinin birlikte görüntüsü.

3. Deney Prosedürü

Deney günü kafesinden alınan sıçanlar deneylerin yapıldığı laboratuara getirilip cam kafeslere (20*20*13 cm) konuldu. İlk 1 saat sıçanların ortama adaptasyonu için herhangi bir işlem yapılmadan beklendi. Bu saatin sonunda sıçanın kafası üzerindeki diyaliz probuna giriş kanülü takılıp hazırlanan diyaliz çözeltisi (147 NaCl, 3.4 CaCl₂, 4 KCl, pH: 6.25) ile probun yerleştiği doku bölgesi (NAK) 1 µl/dakika hızla diyaliz edilmeye başlandı.

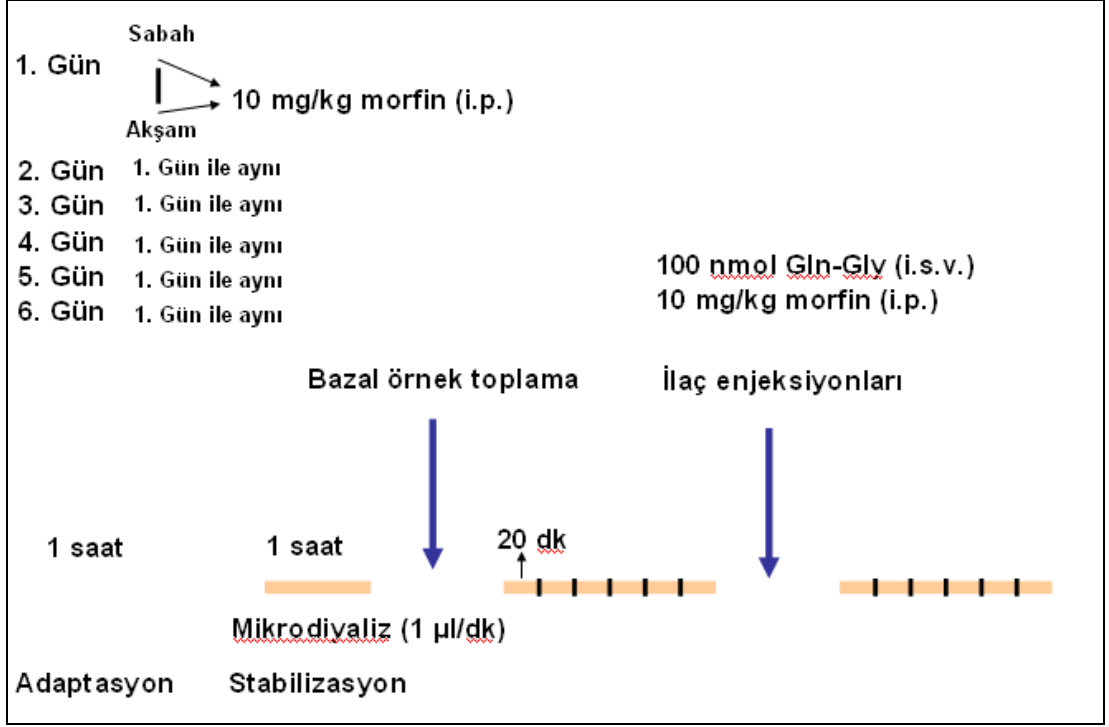
Diyaliz işleminin ilk 1 saatlik stabilizasyon döneminde toplanan örnekler kullanılmadı. İkinci saatin sonunda 20 dakikalık aralarla bazal (baseline-başlangıç düzeyi, ilaç verilmeden önceki durum) örnekler toplanmaya başlandı. Toplanan diyalizat örneklerindeki (toplam 20 µl) dopaminin metabolize olmasını engellemek amacıyla, örneğin toplandığı eppendorf tüplerine 4.0 µl HClO₄ (2.4 N) eklendi (20 µl diyalizat + 4 µl 2.4 N HClO₄). Altı bazal örnek alımı sonrası Glycyl-Glutamine (Gly-Gln; 1, 3, 30 ve 100 nmol) veya tuzlu su (5 µl) merkezi yoldan (isv) verildi. Bu uygulamadan 2 dakika sonra morfin (2.5 mg/kg) veya tuzlu su ip kanülden enjekte edildi. İlaç enjeksiyonlarından sonra yine 20 dakika aralarla 2 saat boyunca örnekler toplanmaya devam edildi. Deney bitiminde sıçanlar pentobarbital ile sakrifiye edilip problemlerin lokalizasyonu verifiye edildi ve doğru bölgede olan sıçanların

verileri değerlendirme kapsamına alındı. Deney prosedürü ve örnek toplama işlemleri altta verilen şekilde gösterilmiştir (Şekil-15).



Şekil-15: Akut dönem deney prosedürü ve ilaç enjeksiyonlarının şematik gösterimi.

Kronik dönemde deneklere cerrahi olarak kılavuz mikrodiyaliz probu yerleştirildi. Deneklere 6 gün süresince günde 2 doz (9:00-18:00) 10 mg/kg morfin HCl i.p. olarak verildi. Deney günü laboratuara getirilen deneklere mikrodiyaliz problemleri kılavuz kanülün içinden geçerek yerleştirildi. Bundan sonraki adaptasyon ve örnek toplama işlemleri akut dönem ile aynı şekilde gerçekleştirildi. Bu deneyler sırasında ilaç dozu olarak 10 mg/kg morfin HCl i.p. ve 100 nmol/5 µl Gly-Gln veya tuzlu su (5 µl) kullandık (Şekil-16).



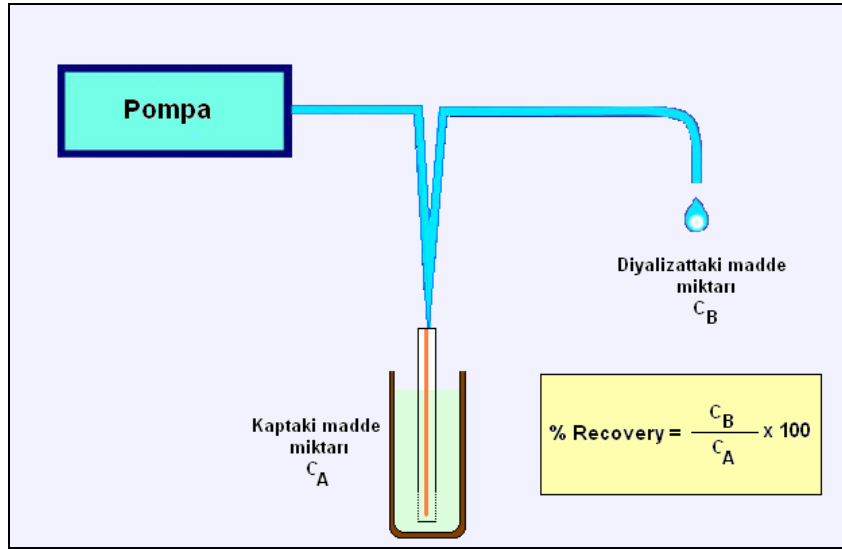
Şekil-16: Kronik dönem deney prosedürü ve ilaç enjeksiyonlarının şematik gösterimi.

4. In Vitro Prob Recovery

Mikrodializ çalışmalarının en temel prensiplerinden biri kullanılan problemlerin in vitro koşullardaki geri alma yeteneklerinin (diğer bir deyimle recovery) belirlenmesidir. Bu konu ile ilgili kaynaklar değerlendirildiğinde, diyaliz problemlerinin dopamin ve DOPAC için geri alma yeteneklerinin, kullanılan diyaliz membranının uzunluğuna, diyaliz hızına, membranın moleküler cut-off değerine göre %10-20 arasında değiştiği görülmektedir. Kendi laboratuvarımızda hazırladığımız diyaliz problemlerinin membran materyali regenere edilmiş sellülozdan oluşmakta olup uzunluğu 2 mm, moleküler cut-off değeri 13 000 Da'dır. Gerçekleştirdiğimiz çalışmada da bu özelliklere sahip diyaliz problemlerinin geri alma yeteneklerini değerlendirdik.

In vivo mikrodializ çalışmalarında kullandığımız fizyolojik çözelti içinde hazırlanan, belirli konsantrasyonlarda dopamin ve DOPAC içeren ve sıcaklığı 37°C'de olan çözeltilerin içine diyaliz problemleri konuldu ve deneyler sırasındaki hız ile diyaliz edilmeye başlandı. Standart çözeltiler yaklaşık 30

dakika, örnek toplanmaksızın, 1 µl/dakika hızında diyaliz edildi. Bu başlangıç (yıkama dönemi) süresi sonrasında, 20 dakikada bir toplanan örnekler (diyalizat) HPLC sistemine enjekte edilerek, içerdikleri dopamin ve DOPAC miktarları ölçüldü. Elde edilen değerler diyaliz edilen standart çözeltilerdeki miktarlara oranlanarak, hazırladığımız problemlerin % recovery'leri hesaplandı. Şekil-17'de şematik olarak in vitro recovery ölçümü gösterilmektedir.



Şekil-17: Prob geri alma (recovery) hesaplama işleminin şematik gösterimi.

Genel anlamda probun geri alma (recovery) yeteneği, membrandan geçen madde miktarının dış ortamdaki madde miktarına oranlanmasıdır. Şekil-17'de belirtilen formüldeki tanımlar daha açık ifade ile yazıldığında aşağıda belirtilen hesaplama ortaya çıkmaktadır.

$$\% \text{ Recovery} = \frac{\text{Toplanan diyalizattaki madde miktarı}}{\text{Standart çözelti içindeki madde miktarı}} \times 100$$

Bu çalışmalar sonrası hazırladığımız problemlerin dopamin ve DOPAC için in vitro recovery değerleri ile ilgili elde ettiğimiz veriler aşağıdaki tabloda özetlenmiştir (Tablo-1). Elde edilen bu değerler de diğer çalışmalarla uyumludur (158).

Tablo-1: Konsantrasyonları bilinen dopamin ve DOPAC standartlarına ait standartların ve aynı sıvıdan diyaliz ile elde edilen örneklerin piklerine ait eğri alındaki alanlar, yüzde değerler ve ortalamaları.

Piklerin eğri altı alan değerleri	Dopamin (fm.dk/ μ l)	Yüzde değer (%)	Ortalama %
Direkt standart	1550447		8
Diyalize edilmiş standart	111631	7,2	
Direkt standart	1668269		9,1
Diyalize edilmiş standart	151007	9,1	
Direkt standart	1771045		7,4
Diyalize edilmiş standart	131093	7,4	
Direkt standart	1766902		8,3
Diyalize edilmiş standart	147382	8,3	

Piklerin eğri altı alan değerleri	DOPAC (pm.dk/ μ l)	Yüzde değer (%)	Ortalama %
Direkt standart	583076		10,2
Diyalize edilmiş standart	48288	8,3	
Direkt standart	822865		9,3
Diyalize edilmiş standart	76716	9,3	
Direkt standart	838628		13
Diyalize edilmiş standart	109339	13	
Direkt standart	827420		10,2
Diyalize edilmiş standart	84126	10,2	

5. HPLC sistemi, Dopamin ve DOPAC Ölçümleri

Katekolamin ölçümleri aşağıda özellikleri belirtilen mobil faz, elektrokimyasal dedektör ve C18 kolon kullanılarak gerçekleştirildi. Laboratuvarımızdaki HPLC sistemi Şekil-18'de gösterilmektedir.

Dopamin ve DOPAC ölçümleri için hazırlanan mobil faz kompozisyonu;

- 150 mM $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$
- 75 μ M 1-Octane sulfonik asit
- 100 μ M EDTA
- % 15 Metanol

- Kolon tipi : ESA C18 narrowbore
- Kolon sıcaklığı : 35 °C
- Pompa akış hızı : 0.2 ml/dakika
- Dedektör : Coulochem 3, Model 5300

Electrochemical cell : Model 5041,

Guard cell : Model 5020,

Hücreye uygulanan potansiyeller;

Cell : + 200 mV

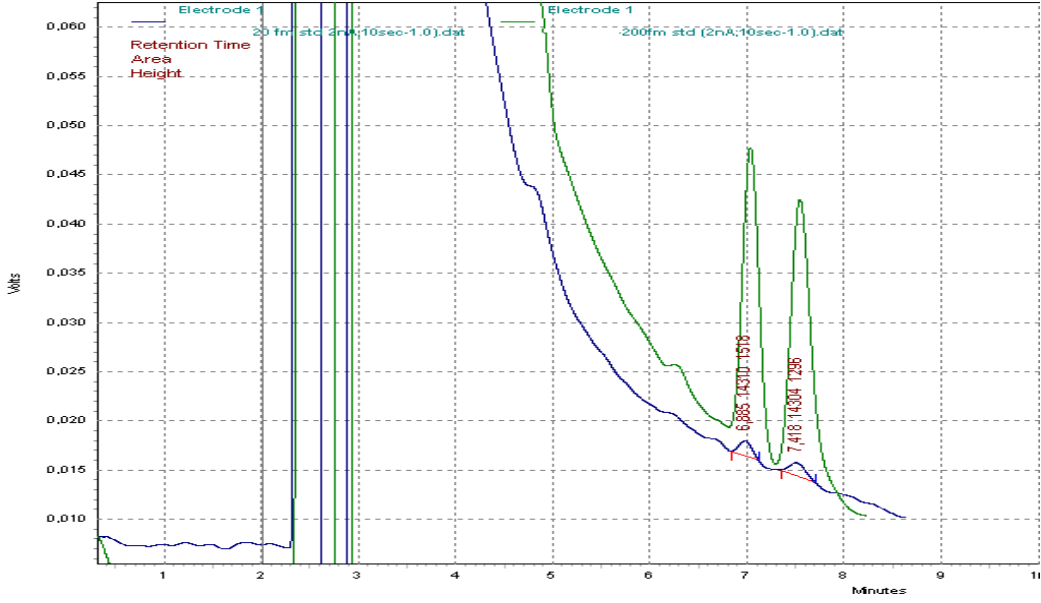
Guard cell : + 400 mV

Signal output voltage : 1 V



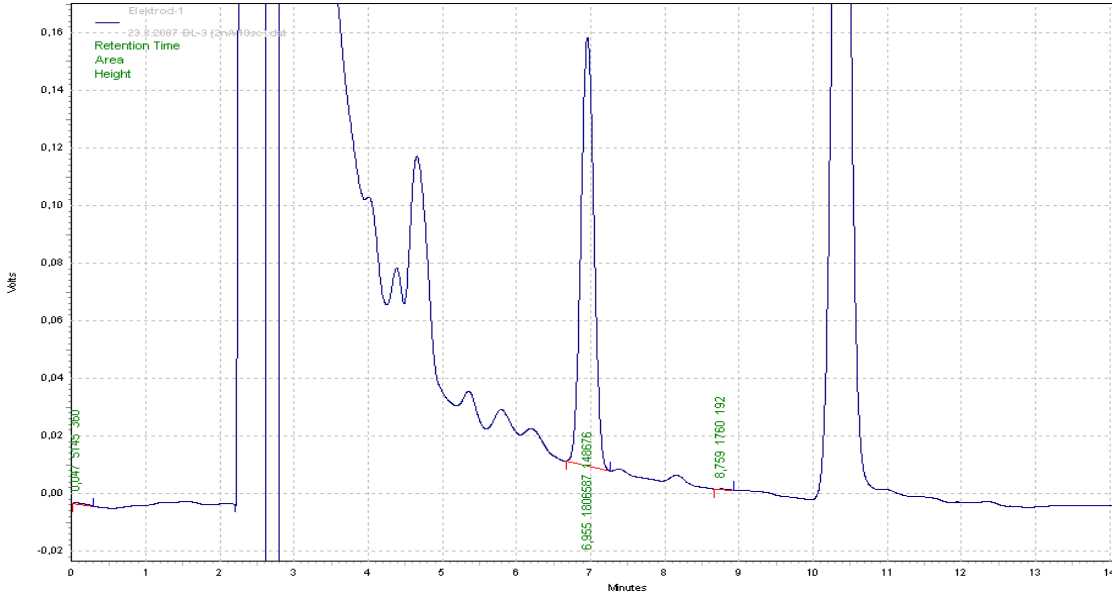
Şekil-18: Deneyler sırasında toplanan diyalizat örneklerinden dopamin ve DOPAC ölçümlerinin gerçekleştirildiği laboratuvarımızdaki HPLC sistemi.

Deneyler sırasında toplanan diyalizatlar çoğu zaman bekletilmeden HPLC sistemine enjekte edilerek içerdikleri dopamin ve DOPAC miktarları ölçüldü (Şekil-19). Mirkodiyaliz deneylerinin yapıldığı zaman diliminde HPLC sistemine enjekte edilemeyen diyalizat örnekleri -30°C 'de saklandı.

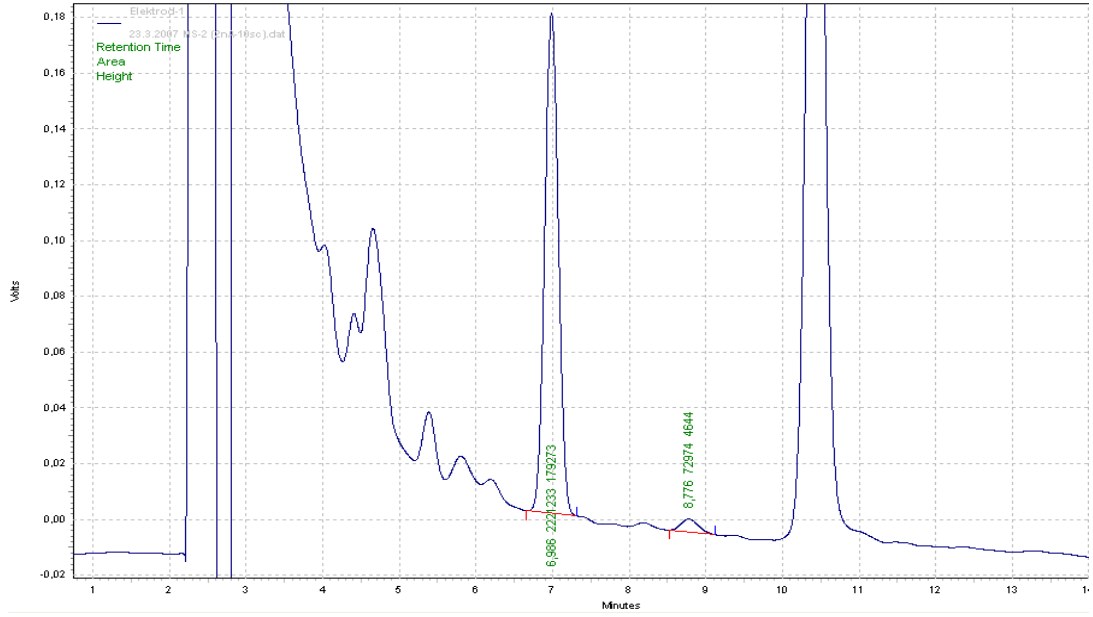


Şekil-19: Standard 20 fmol ve 200 fmol DOPAC ve dopamin piklerine ait kromatogram. 6,8 dk'da DOPAC 7,4 dk'da dopamin pikleri görülmektedir.

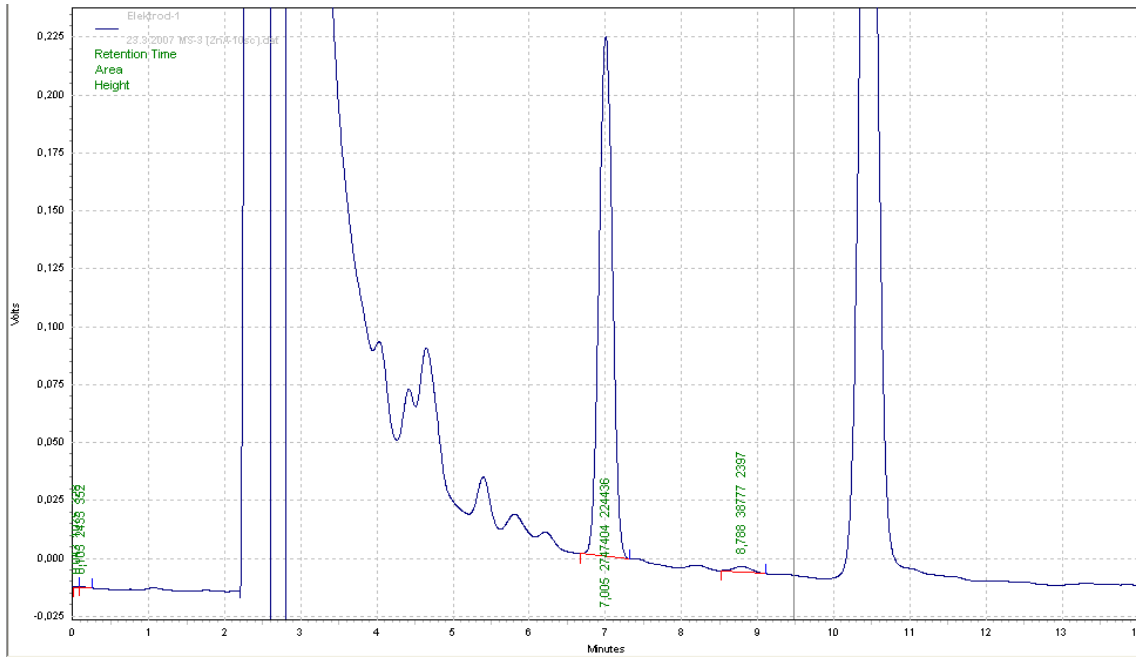
Morfin verilmeden önce diyalizatlardan elde edilen bazal dopamin ve DOPAC (Şekil-20) piklerine ait kromatogramlar. Sonrasında sırasıyla morfin sonrası 40. dk (Şekil-21), 60. dk (Şekil-22) ve 80. dk (Şekil-23) kromatogramlarda dopaminin zaman içindeki artışı net olarak görülmektedir.



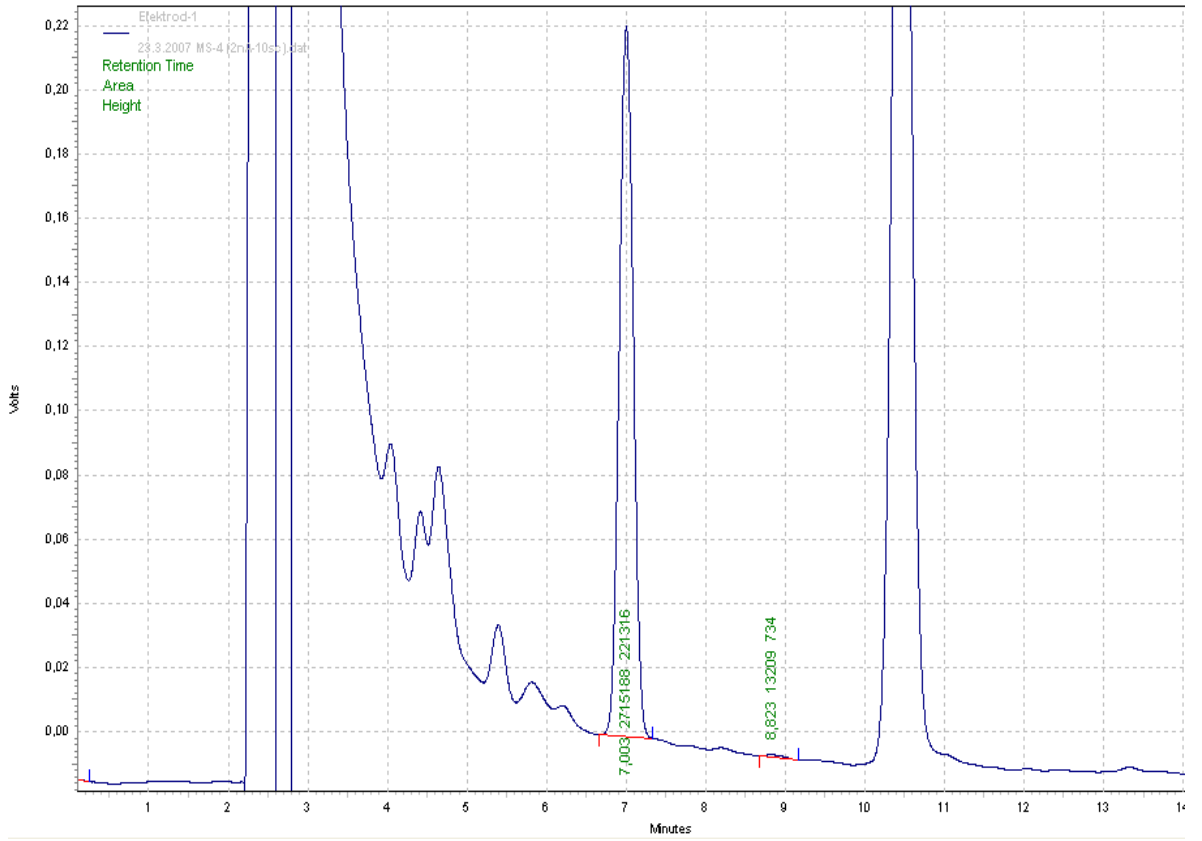
Şekil-20: Morfin (2.5 mg/kg; i.p.) öncesi bazal DOPAC ve Dopamin çıkışları. Bu kromatogramda, zaman olarak 6.9'da DOPAC'a ait pik, 8.7'de ise dopamin'e ait olan pik görülmektedir.



Şekil-21: Morfin (2.5 mg/kg; i.p.) uygulaması sonrası 2. örnek. Bu kromatogramda, zaman olarak 6.9'da DOPAC'a ait pik, 8.7'de ise dopamin'e ait olan pik görülmektedir.



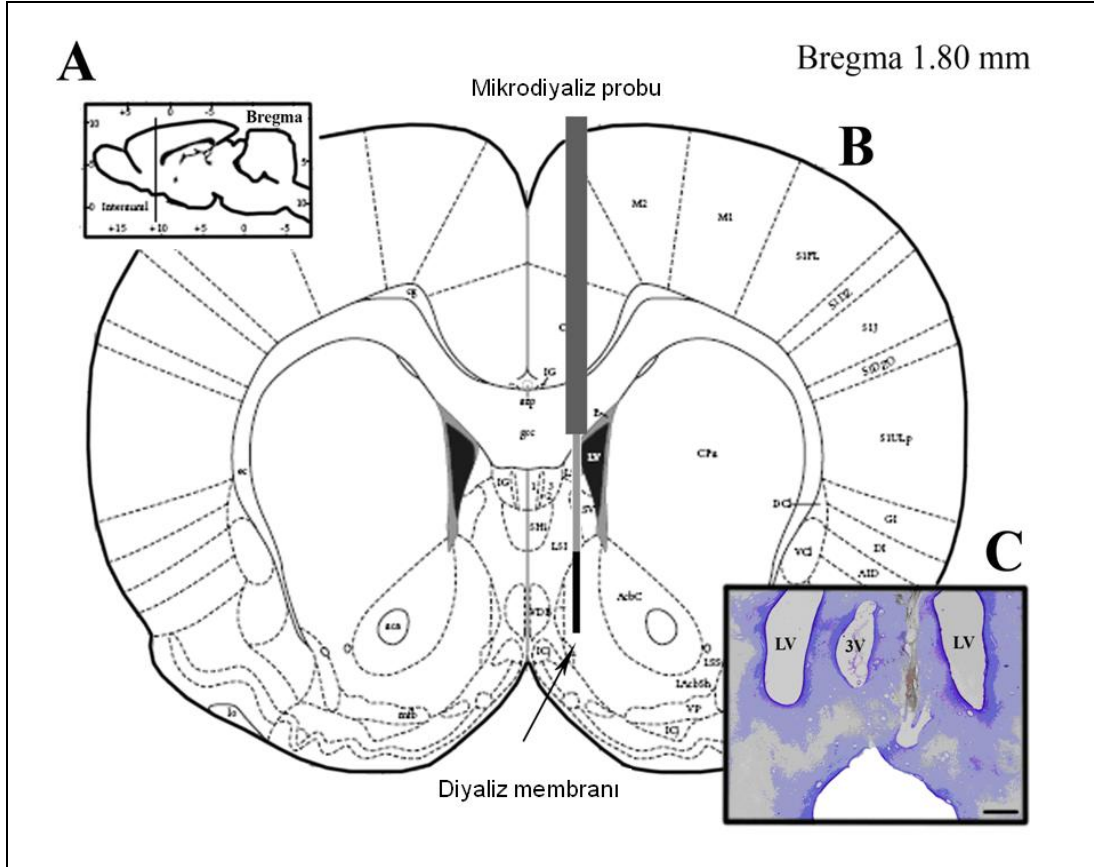
Şekil-22: Morfin (2.5 mg/kg; i.p.) uygulaması sonrası 3. örnek. Bu kromatogramda, zaman olarak 7.0'da DOPAC'a ait pik, 8.7'de ise dopamin'e ait olan pik görülmektedir.



Şekil-23: Morfin (2.5 mg/kg; i.p.) uygulaması sonrası 4. örnek. Bu kromatogramda, zaman olarak 7.0'da DOPAC'a ait pik, 8.8'de ise dopamin'e ait olan pik görülmektedir.

6. Histoloji

Yapılan mikrodializ çalışmalarında probun yerine doğrulamak için deney sonrası sıçanlar yüksek doz pentobarbital anestezisi altında sakrifiye edildi, çıkartılan beyin histolojik kesit alınması için gerekli işlemlere maruz bırakıldı. Daha sonra alınan kesitlerde mikrodializ probunun NAK shell kısmında yer aldığı histolojik kesit görülmektedir (Şekil-24).



Şekil-24: Gerçekleştirilen deneyler sırasında mikrodiyaliz probunun stereotaksik ve histolojik olarak bulunduğu bölge. Probu yerleştirildiği NAK shell bölgesinin hemotoksilen eosin boyası ile boyanmış histolojik görüntüsü. A: Sıçan beyninin sagittal kesitinde probun yeri. B: Paxinos and Watson atlasından elde edilen koronal kesitte NAK shell kısmına yerleştirilen mikrodiyaliz probunun şematik görüntüsü. C: Prob yerinin histolojik olarak doğrulanması (LV: Lateral ventrikül, 3V: Üçüncü ventrikül).

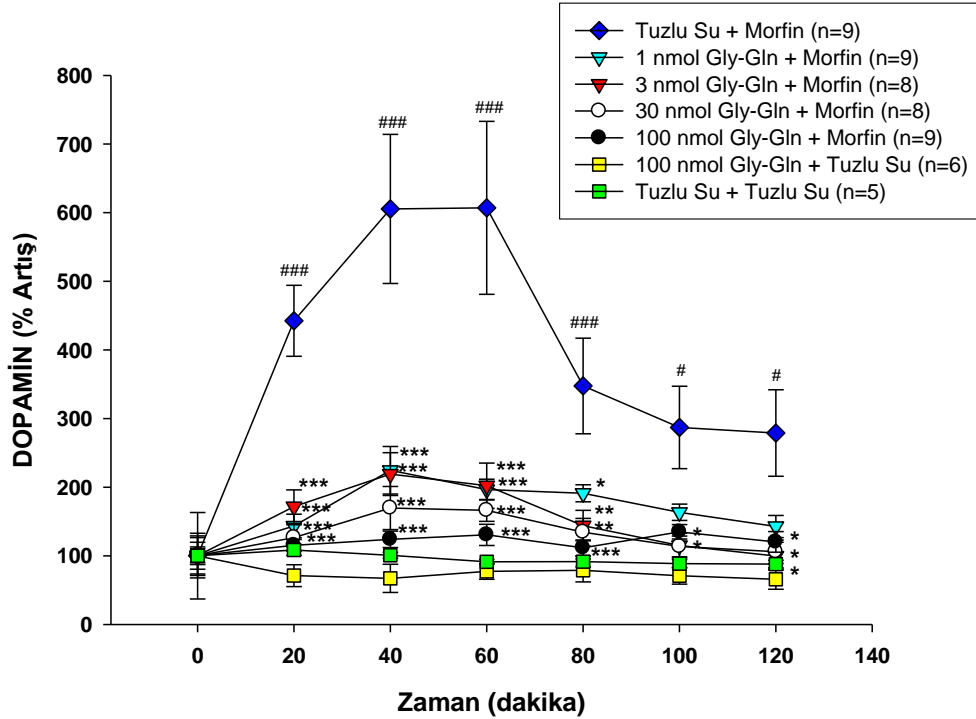
7. İstatistik

Çalışmadaki veriler yüzde artışlar üzerinden Two-way RM-ANOVA'yı takiben Tukey testi ile istatistiksel olarak değerlendirildi. Eğri Altı Alanın değerlendirilmesi için Pharmacologic Calculation System Area Under a Curve: Trapezoidal Rule (fm.dk/ μ l, pm.dk/ μ l) kullanıldı.

BULGULAR

1. Akut morfin uygulamasının neden olduğu Dopamin ve DOPAC saliverilmesi üzerine Gly-Gln'in etkisi

Yapılan deneylerde Tuzlu Su + Morfin, Gly-Gln + Morfin, Gly-Gln + Tuzlu Su ve Tuzlu Su + Tuzlu Su olmak üzere 4 farklı grupta dopamin ve DOPAC ölçümleri gerçekleştirildi. Deneylerin sonuçları aşağıdaki şekillerde (Dopamin düzeyleri için Şekil-25 ve 26, DOPAC düzeyleri için Şekil-27) görülmektedir.

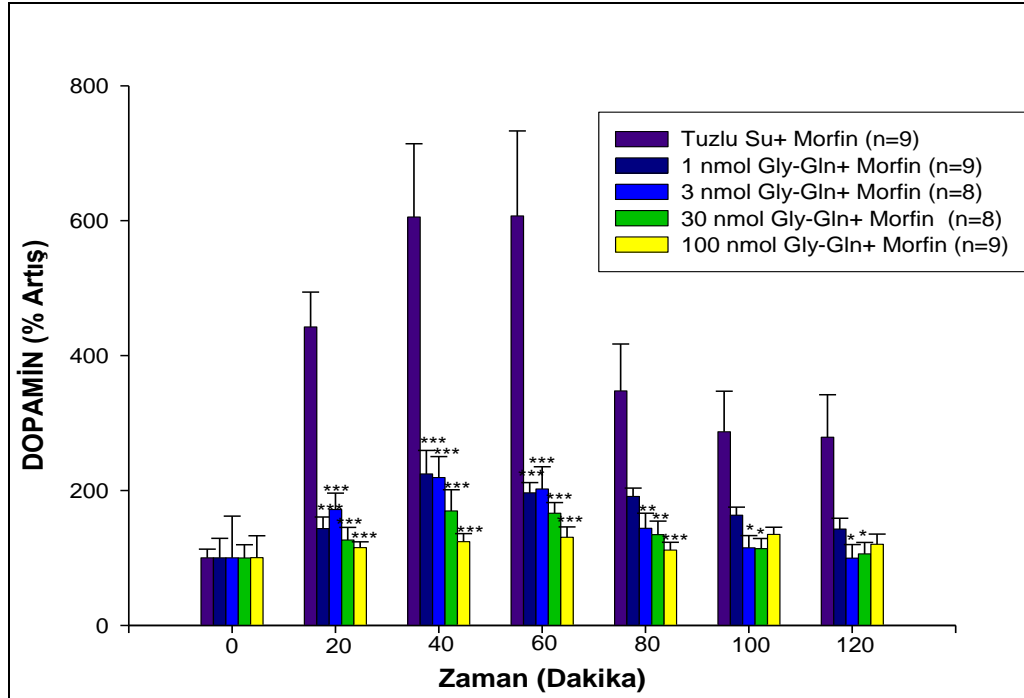


Şekil-25: Tuzlu Su + Morfin, Gly-Gln (1, 3, 30, 100 nmol) + Morfin, Gly-Gln (100 nmol) + Tuzlu Su ve Tuzlu Su + Tuzlu Su sonrası NAc'ten toplanan diyalizat örneklerindeki ölçülen dopamin miktarları yüzde artış olarak gösterilmektedir. # Tuzlu Su + Morfin grubunun, Bazal düzeylere (Tuzlu Su + Tuzlu Su) göre anlamlılığı, * Gly-Gln + Morfin grubunun, Tuzlu Su + Morfin grubuna göre anlamlılık etkisini ifade etmektedir.

p<0,001; ## p<0,01 ; # p<0,05

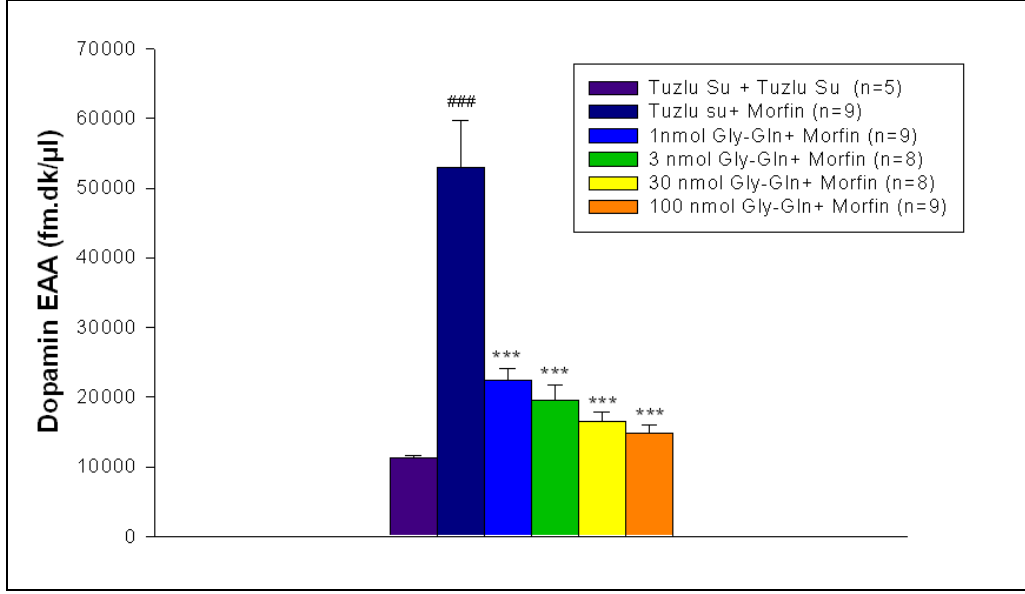
***p<0,001; ** p<0,01; * p<0,05

Deneylerden elde edilen sonuçlarda Tuzlu Su + Tuzlu Su grubundaki bazal dopamin ve DOPAC düzeyleri sırasıyla $6,2 \pm 0,7$ fmol/20 μ l ve $2,68 \pm 0,7$ pmol/20 μ l olarak bulundu. Şekil-25'de da görüldüğü gibi, morfin sonrası NAK'teki dopamin düzeylerinde anlamlı olarak artış meydana geldi. Dopamin düzeyleri 20. dakikada artmaya başladı ve en yüksek değerine (bazal değerlerinin % 600) 40 dakikada ulaştı, 60 dakikadan sonra azalma eğilimine geçse de anlamlılığını korumaya devam etti. Morfin uygulanmasından hemen önce verilen Gly-Gln'in (1, 3, 30, 100 nmol) ise doza ve zamana bağlı olarak anlamlı bir şekilde bu artışları inhibe etti (Şekil-26).



Şekil-26: Tuzlu Su + Morfin ve Gly-Gln (1, 3, 30, 100 nmol) + Morfin sonrası NAc'ten toplanan diyalizat örneklerindeki ölçülen dopamin miktarları yüzde artış olarak gösterilmektedir. * Gly-Gln + Morfin grubunun, Tuzlu Su + Morfin grubuna göre anlamlılık etkisini ifade etmektedir. *** $P < 0.001$; ** $P < 0.01$; * $P < 0.05$.

Gly-Gln'in morfin sonrası gözlenen dopamin artışını inhibe edici etkisi eğri altındaki alan hesaplaması ile verilen Şekil-27'de daha net olarak görülmektedir.

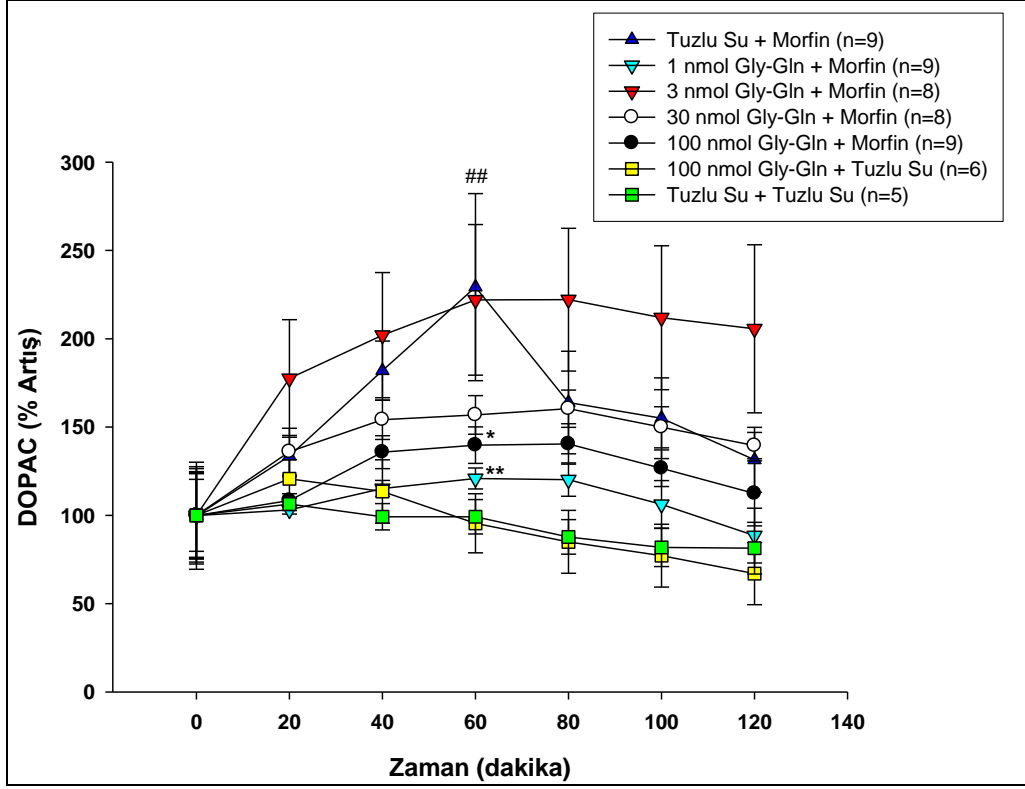


Şekil-27: NAK'ten toplanan diyalizat örneklerinde zamana karşı ölçülen dopamin miktarlarının eğri altı alan değerleri bakımından karşılaştırılması. * Gly-Gln + Morfin (2.5 mg/kg; ip) grubunun, Tuzlu Su + Morfin grubuna göre, anlamlılık etkisini ifade etmektedir. # Tuzlu Su + Morfin grubunun, bazal düzeylere (Tuzlu Su + Tuzlu Su) göre anlamlılığı etkisini ifade etmektedir.

p<0,001

***p<0,001

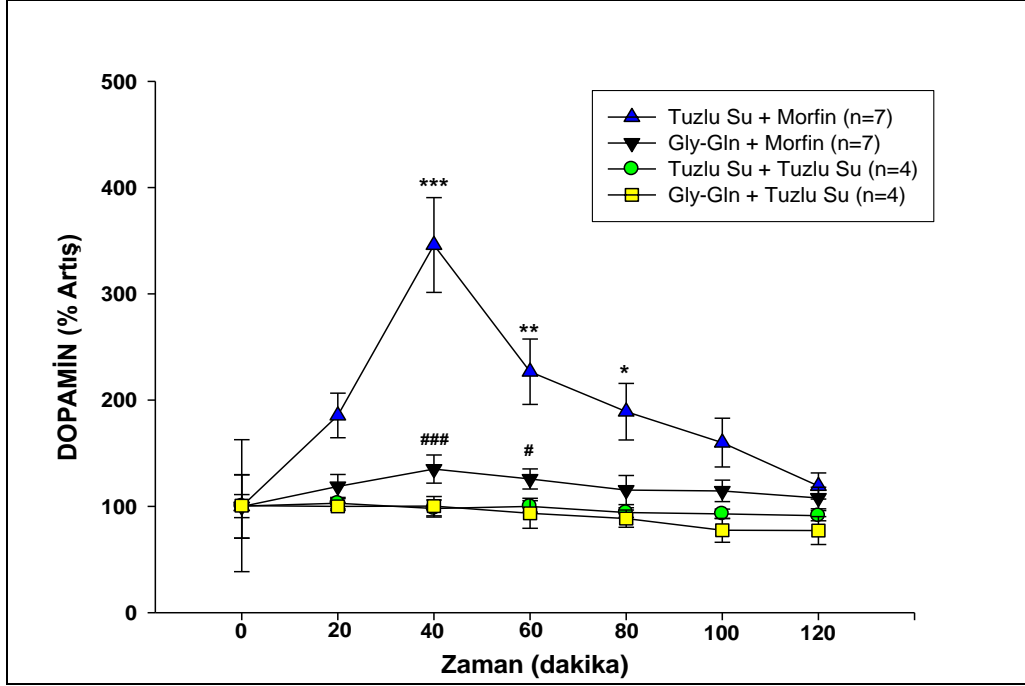
DOPAC düzeylerinde morfin sonrası sadece 60. dakikada anlamlı olarak artış gözlemlendi. Bu tek zaman diliminde görülen artış Gly-L-Gln (1, 100 nmol) ile istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde baskılandı (Şekil-28).



Şekil-28: Tuzlu Su + Morfin, Gly-Gln + Morfin, Gly-Gln + Tuzlu Su ve Tuzlu Su + Tuzlu Su sonrası NAc'ten toplanan diyalizat örneklerindeki ölçülen DOPAC miktarları yüzde artış olarak gösterilmektedir. # Tuzlu Su + Morfin grubunun, Bazal düzeylere (Tuzlu Su + Tuzlu Su) göre anlamlılığı, * Gly-Gln + Morfin grubunun, Tuzlu Su + Morfin grubuna göre anlamlılık etkisini ifade etmektedir.

2. Kronik morfin uygulamasının neden olduğu Dopamin ve DOPAC saliverilmesi üzerine Gly-Gln'in etkisi

Kronik dönem çalışmasında da Tuzlu Su + Morfin, Gly-Gln + Morfin, Gly-Gln + Tuzlu Su ve Tuzlu Su + Tuzlu Su olmak üzere 4 farklı grupta dopamin ve DOPAC ölçümleri yapıldı ve Gly-Gln'in etkisi araştırıldı. Deneylerin sonuçlarını içeren şekiller aşağıda görülmektedir (Dopamin için Şekil-29 ve 30, DOPAC için Şekil-31).

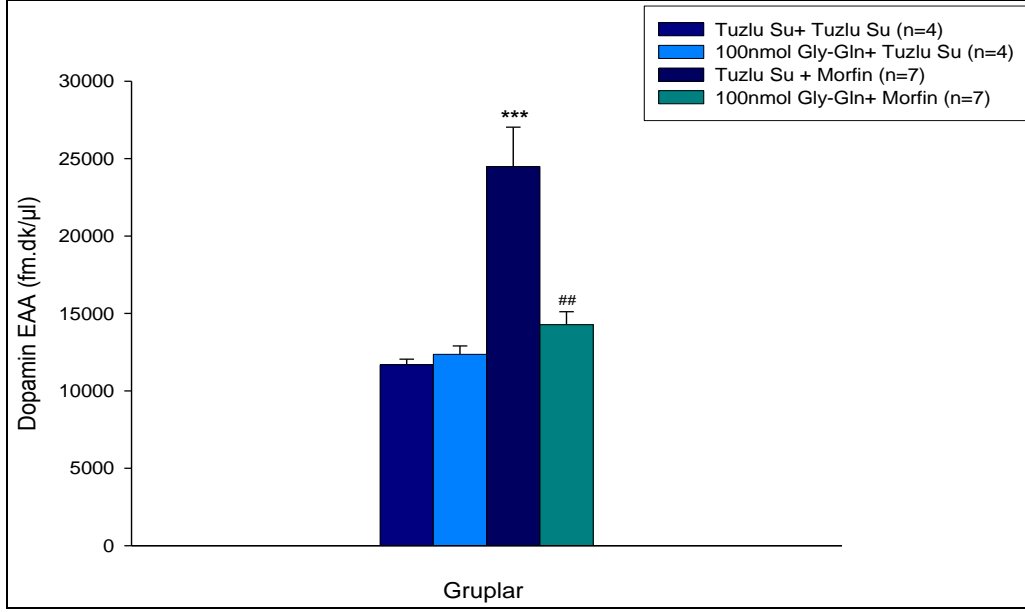


Şekil-29: Tuzlu Su + Morfin (10 mg/kg; ip), Gly-Gln (100 nmol; isv) + Morfin, Gly-Gln (100 nmol; isv) + Tuzlu Su ve Tuzlu Su + Tuzlu Su sonrası NAc'ten toplanan diyalizat örneklerindeki ölçülen dopamin miktarları yüzde artış olarak gösterilmektedir.

* Tuzlu Su + Morfin grubunun, bazal düzeylere (Tuzlu Su + Tuzlu Su) göre anlamlılığı,

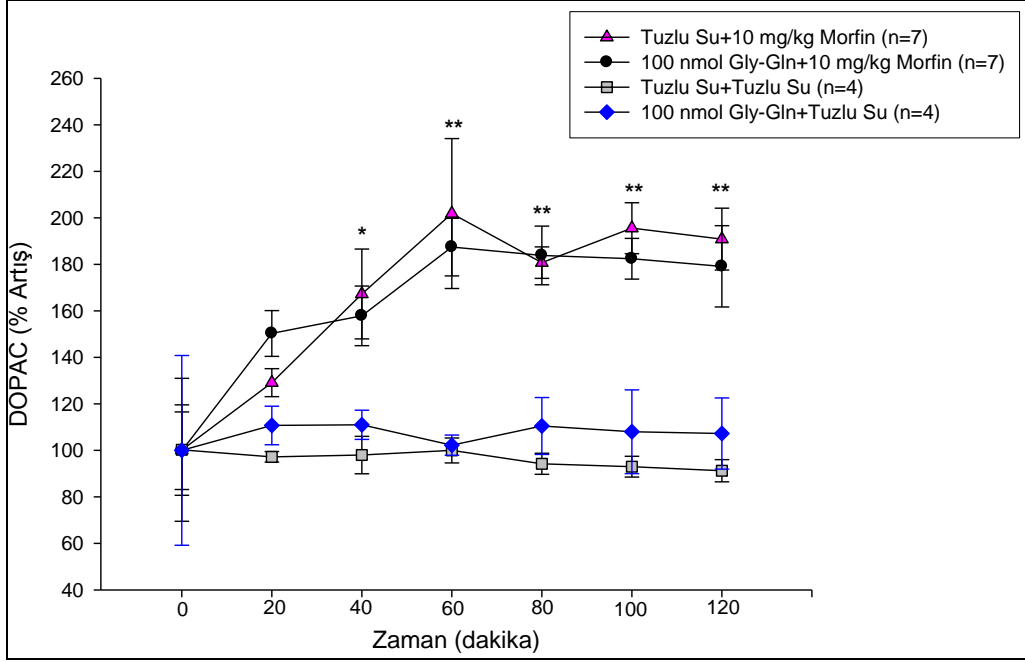
Gly-Gln + Morfin grubunun, Tuzlu Su + Morfin grubuna göre anlamlılık etkisini ifade etmektedir. *** p<0,001; ** p<0,01; * p<0,05; ### p<0,001; # p<0,05

Kronik morfin uygulanması (6 gün sabah-akşam 10 mg/kg i.p.) sonrası deney günü morfin verilmesi sonrasında NAc'teki dopamin miktarının anlamlı olarak arttığı gözlemlendi. Muhtemelen gelişen toleransa bağlı olarak bu artışın akut dönemdeki artıştan daha az düzeyde olduğu görüldü.



Şekil-30: NAK'ten toplanan diyalizat örneklerindeki ölçülen dopamin miktarlarının eğri altı alanları bakımından karşılaştırılması. * Tuzlu Su + Morfin grubunun, Bazal düzeylere (Tuzlu Su + Tuzlu Su) göre anlamlılığı, # Gly-Gln + Morfin grubunun, Tuzlu Su + Morfin grubuna göre anlamlılık etkisini ifade etmektedir. *** $p < 0,001$; ** $p < 0,01$; * $p < 0,05$; ## $p < 0,01$.

Dopamin düzeyleri 20. dakikada artmaya başladı ve en yüksek değerine 40 dakikada ulaştı, 60. dakikadan sonra azalma eğilimine geçti ve 80. dakikadan sonra anlamlılığını kaybetti (Şekil-29). Seçilen Gly-Gln dozu için daha önceki çalışmalarımızda maksimum etkinin görüldüğü 100 nmol olarak verildi (Cavun 2005). Gly-Gln'in (100 nmol/5 µl) dopamin artışının maksimum olduğu bu iki zaman diliminde görülen artışı inhibe ettiği görüldü. Bu etki eğri altındaki alan hesaplaması ile verilen Şekil-30'de daha net olarak görülmektedir.



Şekil-31: Tuzlu Su + Morfin, Gly-Gln + Morfin, Gly-Gln + Tuzlu Su ve Tuzlu Su + Tuzlu Su sonrası NAc'ten toplanan diyalizat örneklerindeki ölçülen DOPAC miktarları yüzde artış olarak gösterilmektedir. * Tuzlu Su + Morfin grubunun, bazal düzeylere (Tuzlu Su + Tuzlu Su) göre anlamlılığı ifade etmektedir. ** $p < 0,01$; * $p < 0,05$

Kronik dönemde DOPAC miktarları, morfin verilen grupta kontrol grubuna (Tuzlu Su+Tuzlu Su) göre artış gösterdi. Gly-Gln verilmesinin bu artışı engellemediği gözlemlendi (Şekil-31).

TARTIŞMA VE SONUÇ

Madde kötüye kullanımı ve madde bağımlılığı önceleri irade eksikliği veya karakter güçsüzlüğü olarak algılanmıştır. Ancak zaman içinde yapılan araştırmalardan elde edilen bulgularla bu görüş geçerliliğini yitirmiştir. Günümüzde artık madde bağımlılığının bir beyin hastalığı olduğu ortaya konmuş ve bu süreçte meydana gelen değişiklikler hücresel ve moleküler düzeyde gösterilmeye başlanmıştır.

Son 20 yılda madde bağımlılığı ile ilgili yapılan çalışmalar giderek artan bir önem kazanmıştır. Özellikle madde alımı sonrası bu maddeye bağlı olarak beyinde meydana gelen birtakım değişiklikler gösterilmiş ve bağımlılığın hücresel düzeyde oluşan bir nöroadaptasyon mekanizması olduğu ortaya konmuştur. Bu süreç ilacın etkilerine karşı gelişen bir kontraadaptasyon ve ilaç alınan yeni duruma uyum sağlamak için bir hücre tarafından sağlanan bir homeostasis olayıdır. Bağımlılık yapan maddelerin davranışsal etkilerinin temelinde özellikle santral sinir sisteminde yol açtıkları bu değişiklikler yatmaktadır (159).

Tekrarlanan madde alımı sonrası görülen bu adaptif değişikliklerden bazı nörotransmitterler ve etki ettikleri reseptörlerin sorumlu olduğu bilinmektedir. Bu endojen nörotransmitterlerden en önemlisi ve üzerinde en çok çalışılanı bir katekolamin olan dopamindir. Bağımlılık yapan maddelerin beyin ödüllendirme sistemi olarak tanımlanan ve dopaminerjik projeksiyonlardan oluşan mezolimbik yolakta dopamin konsantrasyonunu artırdığı gösterilmiştir. Yapılan birçok çalışma ile dopaminin bağımlılık gelişimindeki rolü açık bir şekilde ortaya konmuştur (40, 160-162). Dopaminin rolü ödüllendirme ile sınırlı olmayıp nöroadaptasyon ve alınan madde ile ilgili öğrenme süreçlerinde de etki ettiğini düşündüren bulgular mevcuttur (163).

Bağımlılık yapan maddeler direkt veya indirekt olarak dopamin artışı üzerine etki etmektedir. Psikostimülanlar dopamini sinaptik aralıktan geri alan taşıyıcıyı inhibe ederek sinaptik aralıkta dopamin düzeylerini artırmaktadır.

Morfin ve diğ er opioidler ise GABA nöronlarını inhibe ederek dopamin salınımını indirekt olarak artırmaktadır.

Bağımlılık gelişme sürecinde rol oynayan nöro-anatomik yollara daha detaylı baktığımızda, opioid ilaçların ödüllendirici etkisinde (164, 165) ve opioid yoksunluğunda ortaya çıkan hoşnutsuzluk yaratan sakınma etkilerinin (16, 166) her ikisinde de mesolimbik dopamin yolunun kritik bir önemi olduğu çok eskiden beri bilinmektedir. Suistimal edilen tüm ilaçların en önemli etki alanı olan mesolimbik dopamin yolağı, VTA'daki dopaminerjik nöronları ve onların başta NAK olmak üzere, prefrontal korteks, amygdala ve hipokampusu olan projeksiyonlarını içermektedir (39, 167, 168). VTA'dan NAK'e olan dopaminerjik yolların da opioidlerin ödüllendirmeye ilişkin davranışlarına aracılık yaptığı bilinmektedir (41, 169-172). Morfinin de NAK ve striatumdaki dopamin nöronlarının aktivasyonunu artırdığı bilinmektedir (19, 160, 173) ve bunu da VTA ve substantia nigra (SN) pars reticulata'daki GABA internöronları üzerinde bulunan μ reseptörlerine bağlanarak yaptığı düşünülmektedir (19, 23, 174). Bilindiği gibi μ reseptörlerinin aktivasyonu, adenil siklazın inhibisyonuna, voltaja bağımlı Ca^{+2} kanallarının, özellikle N tipi kanalların inhibisyonuna ve içeri dönük doğrultucu potasyum kanallarının açılmasına neden olmakta, bu da nöronlarda inhibisyon oluşturmaktadır (9). VTA ve SN pars reticulata üzerindeki GABA nöronlarındaki bu inhibisyon, VTA'dan NAK'e olan dopaminerjik projeksiyonlar üzerine olan tonik inhibisyonun ortadan kalkmasına ve bunun sonucu da nöronal ateşlenmeyi artırarak bu bölgelerdeki dopamin salınımına neden olmaktadır (115). NAC'e olan bu projeksiyonlarında özellikle shell kısmına doğru olduğu, zira ödüllendirmeye ilişkin olarak bu bölgenin sorumlu olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur (25, 30).

Morfinin VTA'daki yaygın GABA nöronları üzerinden dopaminerjik sistemi etkilemesinin yanında, çok sayıda bulgu da mesopontine lateradorsal ve pedunculo-pontine tegmental nükleuslardan gelen kolinerjik projeksiyonların rolü üzerinde durmaktadır. Morfinin VTA ve substantia nigra pars kompaktadaki (SNc) muskarinik asetilkolin reseptörlerini direkt aktive etmek suretiyle ödüllendirme ile ilişkili davranışlarda aracılığının olabileceğini

düşünülmektedir (175-178). Yapılan çalışmalarda 5 muskarinik reseptör alt tipinden yalnızca M5 reseptör mRNA'sının VTA ve SNc'daki dopamin nöronlarının hücre gövdesinde lokalize olduğu gösterilmiştir (179-181). M5 alt tipine selektif ligand olmaması (182) nedeniyle M5 reseptörü çıkarılmış farelerde ve M5 antisense infüzyonu uygulanan sıçanlarda yapılan çalışmalarda, dopamin ile ilişkili ödüllendirmede M5 muskarinik asetilkolin reseptörlerinin aracılığının olduğu gösterilmektedir (183, 184). Basile'nin (185) M5 reseptörü çıkarılmış farelerle yaptığı çalışmada morfinle eşleştirilmiş yer tercihinin ve morfinle indüklenen NAK'teki ekstrasellüler dopamin seviyelerindeki artışların azaldığının gösterilmesi kolinerjik sistemin bağımlılıkta rolü olduğunu destekleyen bir diğer bulgu olmuştur (185). Bu bilgiler ışığında Gly-Gln'in kolinerjik sistemle bağlantısının ayrıntılı olarak incelenmesi etki mekanizmasının aydınlatılmasına katkı sağlayacak, bir takım bilgileri elde etmek veya ekarte etmek açısından yararlı olacaktır.

Bağımlılık yapan maddelerin oluşturduğu bu biyokimyasal değişiklikler davranışsal etkilerinden sorumlu olan başlıca mekanizmadır. Bağımlı hale gelmiş kimse madde alımını sınırlamada kontrolün kaybeder, tüm zamanını ve enerjisini madde bulmaya ve kullanmaya ayırır. Bağımlılık gelişimi ile beraber özellikle yoksunluk sendromu ile kişinin günlük hayatı etkilenir, kendisi ve çevresi ciddi zararlar görür. Madde bağımlılığı birey ve toplum sağlığı açısından son derece önemli bir problem haline gelmiştir. Bağımlılık yapan maddelerin bu olumsuz etkilerinin giderilmesi veya önlenmesi amaçlayan birçok çalışma yürütülmektedir. Bu araştırmalara rağmen günümüzde bağımlılık tedavisinde rutin kullanıma girmiş halen etkili ve güvenli bir ajan yoktur.

Beta-endorfin post-translasyonel yıkımı ile Gly-Gln ve birlikte oluşan beta-endorfin₁₋₂₇'ye parçalanmaktadır. Daha önceki çalışmalarda beta-endorfin₁₋₂₇'nin, NAK'den beta-endorfin ile uyarılmış ekstrasellüler dopamin artışını inhibe ettiği tespit edilmiştir (89). Beta-endorfin₁₋₂₇'nin beta-endorfin'in yanında diğer opioidlerin şartlandırılmış yer tercihlerini bloke ettiği (88) gösterilmiş ve alkol tercih eden P sıçanlarında da etanol alımını inhibe ettiği bulunmuştur (6). Gly-Gln'in aksine, beta-endorfin₁₋₂₇ muhtemelen mü ve/veya

epsilon opioid reseptörlerini bloke etmek suretiyle bu farmakolojik etkisini gerçekleştirdiği düşünülmektedir (87). Bu sonuçlar, bazı beta-endorfin nöronlarından beta-endorfin₁₋₂₇ ve Gly-Gln'in birlikte salındığı ve opioidlerin ödüllendirici etkilerinin ortadan kaldırılmasında rol aldıkları izlenimi vermektedir. Kronik morfin verilmesi ile yapılan deneylerin sonuçlarında morfinin beta-endorfin'den beta-endorfin₁₋₂₇ sentezini artırdığı belirtilmiştir (186). Bu bulgu beta-endorfin'in parçalanma ürünlerinin kendi etkisini sonlandırdığı tezi ile uyumlu olmakla birlikte, Gly-Gln ve/veya beta-endorfin₁₋₂₇'in endojen olarak opioid ödüllendirmesini modüle ettiğine dair direkt bir kanıt henüz gösterilememiştir.

Laboratuvarımızda yapılan önceki çalışmalarımızda Gly-Gln'in morfine karşı gelişen toleransı, bağımlılığı ve yoksunluk sendromu bulgularını inhibe ettiğini, morfinin oluşturduğu koşullandırılmış yer tercihinin önlediğini gösterildi (4). Bu çalışmalarımızda gerçekleştirdiğimiz şartlandırılmış yer tercihi (ilaç veya diğer uyarıların teşvik edici ve ödüllendirici etkilerinin test edildiği ve çok yaygın olarak kullanılan bir deneysel metot) deneylerindeki Gly-Gln'in etkisi bizim elde ettiğimiz sonuçlarla uyumlu olarak görülmektedir. Bu bulgular, Gly-Gln'in morfinle indüklenen şartlandırılmış yer tercihinin bloke ettiğini gösteren sonuçları (4) teyit etmektedir. Bu çalışmada da morfinle uyarılmış dopamin çıkışı üzerine Gly-Gln'in gösterdiği etkinin önceki çalışmada gözlenen doza bağımlı etki profiliyle aynı olduğu görülmektedir. Şartlandırılmış yer tercihi ile yapılan çalışmada 100 nmol Gly-Gln ile de tam bir inhibisyon sağlanmış, en düşük doz olan 1 nmol Gly-Gln (isv) ile de anlamlı bir blokaj görülmüştür. Şartlandırılmış yer tercihi deneylerinde Gly-Gln tek başına verildiğinde davranış üzerine gözle görülen bir etkisi gözlenmemiştir (4). Bu çalışmada da Gly-Gln'in tek başına verildiğinde dopamin ve DOPAC düzeyleri üzerine bir etkisi olmamıştır.

Daha önceki çalışmalarda, Gly-Gln'in tadı hoş yiyeceklerle gerçekleştirilen şartlandırılmış yer tercihindeki kazanımları etkilemediği gösterilmiştir (4). Bu bulgu da Gly-Gln'in morfinle oluşturulmuş yer tercihi üzerindeki etkisinin seçici olmayan bir şekilde hafızayı engelleyerek yaptığı fikrine dayandırılmayacağını göstermektedir. Gly-Gln'in yıkım ürünleri olan

glisin (glycine) ve glutamine'nin birlikte verildiğinde aynı etkiyi tekrarlayamadığının tespit edilmesi (4, 6, 187), Gly-Gln etkisinin hidroliz ürünlerine bağlı olmadığını göstermesi bakımından önemlidir. Yine şartlandırılmış yer tercihi deneylerinde, Gly-Gln'in stereoizomeri olan Glycyl-D-Glutamine'nin etkisiz olduğu gösterilmiştir. Bu bulgular ele alındığında, Gly-Gln'in NAK'den dopamin salınımını inhibe etmek suretiyle morfinin ödüllendirici etkisini azaltması sonucuyla uyumludur.

Gly-Gln sadece morfin değil nikotin ve alkol ile yapılan çalışmalarda da etkili bulunmuştur. Gly-Gln'in nikotille oluşturulan şartlandırılmış yer tercihini ve nikotin bağımlısı sıçanlarda, nikotin reseptör antagonisti mekamilamin ile indüklenen şartlandırılmış yer sakınmasını inhibe ettiği gösterilmiştir (5). Bununla birlikte alkol tercih eden P sıçanlarıyla ve alkol alımı normal olan Sprague Dawley sıçanları ile yapılan deneylerde, Gly-Gln'in alkol alımını etkin bir şekilde baskıladığı da tespit edilmiştir (6, 7, 8, 93). Gly-Gln'in alkol alımı üzerine azaltıcı etkisi yalnızca isv yoldan verildiğinde değil, aynı zamanda, daha önceden etanolün ödüllendirici etkisinde rolü olduğu gösterilmiş olan NAK, VTA ve Amigdala'nın central nukleusuna yapılan direkt enjeksiyonlarıyla da olduğu ortaya konulmuştur (6, 7, 8, 93). Opioid, nikotin, alkol ve diğer bağımlılık yapıcı maddelerin ödüllendirici etkilerinin, NAK'den dopamin çıkışını uyararak suretiyle ortak bir mekanizma üzerinden olduğu düşünülmektedir (89, 188) ve Gly-Gln ile ilgili elde edilen sonuçlar görüşü destekler niteliktedir. Gly-Gln'in morfinle uyarılmış dopamin salınımını inhibe etmesi, diğer suiistimal edilen maddeler üzerindeki etkisinin de ortak bir mekanizma vasıtası ile etkiliyor olabileceğini düşündürmektedir.

Günümüzde Gly-Gln'in etki mekanizması henüz kesin olarak saptanamamıştır. Bununla birlikte bu etkisini opioid reseptörleri bloke etmeden gerçekleştirdiği açık bir şekilde ortaya konulmuştur. Owen ve ark. (3) yaptığı çalışmalarda, çok yüksek dozlarda kullanılan Gly-Gln (300 nmol; isv) ön tedavisiyle beta-endorfin ve morfinin oluşturduğu analjezinin engellenmediği gösterilmiştir. Aynı çalışmada, Gly-Gln tek başına kontrol hayvanlarına verildiğinde analjezi bakımından etkisiz olduğu tespit edilmiştir (3). Buna karşılık, bu çalışmada etkili olduğu görülen 1-30 nmol (isv)

dozlarında ise morfinin neden olduğu hipotansiyon ve respiratuar depresyonun Gly-Gln ile bloke olduğu gösterilmiştir (3, 187). Konuyla ilgili yapılan diğer bir çalışmada ise Gly-Gln'in milimolar konsantrasyonlarda dahi beyin membranlarındaki tirityum işaretli nalokson bağlanmasını engelleyemediği gösterildi (187). Bu bulgular, Gly-Gln'in bir opioid reseptör antagonisti gibi davranmadığını ve morfinin ödüllendirici etkisini, morfinin analjezik özelliğine dokunmaksızın, selektif bir şekilde inhibe ettiğini göstermektedir.

Gly-Gln'in bağımlılığı önleyici etkisinde rol alabilecek nörotransmitterler üzerine olan etkisinin incelenmesi bağımlılık ve ödüllendirme süreçlerindeki yerini aydınlatmada çok değerli olacaktır. Gly-Gln, bağımlılık tedavisi için etkileri gösterilmeye başlanmış olan potansiyel bir ajandır. Farmakolojik profil olarak morfinin analjezik etkisine dokunmadan opioidlerin neden olduğu hipotansiyon ve respiratuar depresyonu azaltmakta, morfinin neden olduğu bağımlılık, tolerans ve yoksunluk sendromunu ortadan kaldırmaktadır. Gly-Gln ayrıca, nikotin ve etanol alımı üzerine olan olumlu etkileriyle de suiistimal edilen diğer önemli maddeler olan sigara ve alkole karşı da inhibitör bir etki oluşturmaktadır.

Bu çalışmanın ana bulgusu morfin ile inküklenen NAK'deki ekstrasellüler dopamin artışının merkezi yolla verilen Gly-Gln tarafından önlenmesidir. Dopamin üzerine olan azaltıcı etkisinin doz ve zamana bağlı olduğu görülmüştür. DOPAC üzerine olan etkisi doza bağımlı olmasa da DOPAC düzeylerinde görülen artışı da inhibe etmiştir. Gly-Gln tek başına uygulandığında ekstrasellüler dopamin ve DOPAC konsantrasyonları üzerinde hiçbir etkisi olmamıştır. Bu veri de Gly-Gln'in morfin sonrası NAK'de meydana gelen dopamin salıverilmesini inhibe ettiği sonucu ile uyumludur. Bizim bu çalışmadan elde ettiğimiz veriler, santral yolla uygulanan Gly-Gln'in akut ve kronik olarak verilen morfin sonrası sıçanlarda görülen dopamin artışını doza ve zamana bağlı olarak inhibe ettiği gösterilmiştir. Gly-Gln'in bu inhibitör etkiyi NAc'den dopamin salınımını inhibe ederek gerçekleştirdiğini göstermektedir.

KAYNAKLAR

1. Arias-Carrion O, Pöppel E. Dopamine, learning, and reward-seeking behavior. *Acta Neurobiol Exp (Wars)*. 2007;67:481-8.
2. Koob GF, Le Moal M. Drug addiction, dysregulation of reward, and allostasis. *Neuropsychopharmacology* 2001;24:97-129.
3. Owen MD, Unal CB, Callahan MF, Trivedi K, York C, Millington WR. Glycyl-glutamine inhibits the respiratory depression, but not the antinociception, produced by morphine. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2000;279:1944-8.
4. Cavun S, Goktalay G, Millington WR. Glycyl-glutamine, an endogenous B-endorphine derived peptide, inhibits morphine conditioned place preference, tolerance, dependence and withdrawal. *J Pharmacol Exp Ther*. 2005;315:949-58.
5. Goktalay G, Cavun S, Levendusky MC, Hamilton JR, Millington WR. Glycyl-glutamine inhibits nicotine conditioned place preference and withdrawal. *Eur J Pharmacol*. 2006;530:95-102.
6. Resch GE, Shridharani S, Millington WR, Garris DR, Simpson CW, Glycyl-L-glutamine in nucleus accumbens reduces ethanol intake in alcohol preferring (P) rats. *Brain Res*. 2005;1058:73-81.
7. Resch GE, Simpson CW. Glycyl-glutamine reduces ethanol intake at three reward sites in P rats. *Alcohol* 2008;42:99-106.
8. Resch GE, Simpson CW. Cyclo-glycyl-glutamine inhibits ethanol intake in P and Sprague-Dawley rats. *Peptides* 2008;29:430-9.
9. Kayaalp SO. (editör). *Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji*, 2. Cilt. Feryal Matbaacılık, Pelikan Yayıncılık; 2009. 816-21.
10. Olds J, Milner PM. Positive reinforcement produced by electrical stimulation of septal area and other regions of rat brain. *J Comp Physiol Psychol*. 1954;47:419-27.
11. Vetulani J. Drug Addiction Part 2, Neurobiology of Addiction. *Pol J Pharmacol*. 2001;53:303-317.
12. Herdman RC. *Biological Components of Substance Abuse and Addiction*. Washington DC USA: Office of Technology Assessment; 1993. 1-12.
13. Nestler EJ, Malenka RC. The addicted brain. *Sci Am*. 2004 290;3:78-85.
14. Wise RA, Bauco P, Carlezon WA. Self-Stimulation and Drug Reward Mechanisms. *Ann N Y Acad Sci*. 1992;654:192-198.
15. Kornetsky C, Esposito RU, McLean S, Jacobson J.D. Intracranial self stimulation thresholds: A model for the hedonic effects of drugs of abuse. *Arch Gen Psychiatry*. 1979;36:289-92.
16. Koob GF, Bloom FE. Cellular and molecular mechanisms of drug dependence. *Science*, 1988;242:715-23.
17. Koob GF. *Drugs of Abuse: Anatomy, Pharmacology and Function of Reward Pathways*. *Trends Pharmacol Sci*. 1992;13:177-83.

18. Woolverton WL and Johnson KM. Neurobiology of Cocaine Abuse. *Trends Pharmacol Sci.* 1992;13:193-200.
19. Di Chiara G, North RA. Neurobiology of opiate abuse. *Trends Pharmacol Sci.* 1992;13:185-93.
20. Samson HH, Harris RA. Neurobiology of alcohol abuse. *Trends Pharmacol Sci.* 1992;13:206-11.
21. Prüss H, Wenzel M, Eulitz D, Thomzig A, Karschin A, Rüdiger W. Kir2 potassium channels in rat striatum are strategically localized to control basal ganglia function. *Brain Res Mol Brain Res.* 2003;110:203-19.
22. Di Chiara G, Imperato A. Opposite effects of mu and kappa opiate agonist on dopamine release in the nucleus accumbens and in the dorsal caudate of freely moving rats. *J Pharmacol Exp Ther.* 1988;244:1067-80.
23. Johnson SW, North RA. Opioids excite dopamine neurons by hyperpolarization of local interneurons. *J Neurosci.* 1992;12:483-8.
24. Goeders NE, Lane JD, Smith JE. Self-administration of methionine enkephalin into the nucleus accumbens. *Pharmacol Biochem Behav.* 1984;20: 451-5.
25. Ikemoto S, Glazier BS, Murphy JM, Mc Bride WJ. Role of D1 and D2 receptors in the nucleus accumbens in mediating reward. *J Neurosci.* 1997;122:194-7.
26. McBride WJ, Murphy JM, Ikemoto S. Localization of brain reinforcement mechanisms: intracranial self-administration and intracranial place-conditioning studies. *Behav Brain Res.* 1999;101:129-52.
27. Ikemoto S. Involvement of the olfactory tubercle in cocaine reward: intracranial self-administration studies. *J Neurosci.* 2003;23:9305-11.
28. Ikemoto S, Qin M, Liu ZH. The functional divide for primary reinforcement of D-amphetamine lies between the medial and lateral ventral striatum: is the division of the accumbens core, shell and olfactory tubercle *J Neurosci.* 2005;25:5061-5.
29. Carlezon WA Jr, Devine DP, Wise RA. Habit-forming actions of nomifensine in nucleus accumbens. *Psychopharmacology* 1995;122:194-7.
30. Fenu S, Spina L, Rivas E, Longoni R, Di Chiara G. Morphine-conditioned single-trial place preference role of nucleus accumbens shell dopamine receptors in acquisition, but not expression. *Psychopharmacology* 2006;187:143-53.
31. Spina L, Fenu S, Longoni R, Rivas E, Di Chiara G. Nicotine-conditioned single-trial place preference: selective role of nucleus accumbens shell dopamine D1 receptors in acquisition. *Psychopharmacology* 2006;184:447-55.
32. Sellings LH, Clarke PB. Segregation of amphetamine reward and locomotor stimulation between nucleus accumbens medial shell and core. *J Neurosci.* 2003;16:6295-303.
33. Sellings LH, McQuade LE, Clarke PB. Evidence for multiple sites within rat ventral striatum mediating cocaine-conditioned place

- preference and locomotor activation. *J Pharmacol Exp Ther.* 2006;317: 1178-87.
34. Di Ciano P, Cardinal RN, Cowell RA, Little SJ, Everitt BJ. Differential involvement of NMDA, AMPA/kainate, and dopamine receptors in the nucleus accumbens core in the acquisition and performance of pavlovian approach behavior. *J Neurosci.* 2001;1:9471-7.
 35. Meredith GE, Baldo BA, Andrezjewski ME, Kelley AE. The structural basis for mapping behavior onto the ventral striatum and its subdivisions. *Brain Struct Funct.* 2008;213:17-27.
 36. Zhang XF, Hu XT, White FJ, Wolf ME. Increased responsiveness of ventral tegmental area dopamine neurons to glutamate after repeated administration of cocaine or amphetamine is transient and selectively involves AMPA receptors. *J Pharmacol Exp Ther.* 1997;281:699-706.
 37. Aked J, Coizet V, Clark D, Overton PG. Local injection of a glutamate uptake inhibitor into the ventral tegmental area produces sensitization to the behavioural effects of d-amphetamine. *Neuroscience* 2005;134: 361-7.
 38. Vanderschuren LJ, Kalivas PW. Alterations in dopaminergic and glutamatergic transmission in the induction and expression of behavioral sensitization: A critical review of preclinical studies. *Psychopharmacology* 2000;151:99-120.
 39. Nestler EJ. Molecular basis of long-term plasticity underlying addiction. *Nat Rev Neurosci.* 2001;2:119-28.
 40. Leone P, Pocock D, Wise RA. Morphine-dopamine interaction: Ventral tegmental morphine increases nucleus accumbens dopamine release. *Pharmacol Biochem Behav.* 1991;39:469-72.
 41. Devine DP, Wise RA. Self-administration of morphine, DAMGO, and DPDPE into the ventral tegmental area of rats. *J Neurosci.* 1994;14:1978-84.
 42. Di Chiara G. Nucleus accumbens shell and core dopamine: differential role in behavior and addiction. *Behav Brain Res.* 2002;137:75-114.
 43. Miller EK, Cohen JD. An integrative theory of prefrontal cortex function. *Annu Rev Neurosci.* 2001;24:167-202.
 44. Morgan M, LeDoux J. Differential contribution of dorsal and ventral medial prefrontal cortex to the acquisition and extinction of conditioned fear in rats. *Behav Neurosci.* 1995;109:681- 8.
 45. Goldstein L, Rasmusson A, Bunney B, Roth R. Role of the amygdala in the coordination of the behavioral, neuroendocrine, and prefrontal cortical monoamine responses to psychological stress in the rat. *J Neurosci.* 1996;16:4787-98.
 46. Schoenbaum G, Chiba A, Gallagher M. Orbitofrontal cortex and basolateral amygdala encode expected outcomes during learning. *Nat Neurosci* 1998;1:155–9.
 47. Baxter M, Parker A, Lindner C, Izquierdo A, Murray E. Control of response selection by reinforcer value requires interaction of amygdala and orbital prefrontal cortex. *J Neurosci.* 2000;20:4311–19.

48. Cador M, Robbins T, Everitt B. Involvement of the amygdala in stimulus-reward associations: interaction with the ventral striatum. *Neuroscience* 1989;30:77-86.
49. Robbins T, Cador M, Taylor J, Everitt B. Limbic-striatal interactions in reward-related processes. *Neurosci Biobehav Rev.* 1989;13:155–62.
50. Gerrits MA, Lesscher HB, Van Ree JM. Drug dependence and the endogenous opioid system. *Eur Neuropsychopharmacol.* 2003;13:424-34.
51. Kilpatrick GJ, Smith TW. Morphine-6-glucuronide: actions and mechanisms. *Med Res Rev.* 2005;25:521-44.
52. Yeh SY. Urinary excretion of morphine and its metabolites in morphine-dependent subjects. *J Pharmacol Exp Ther.* 1975;192:201-10.
53. Pert C, Snyder S. Opiate receptor; demonstration in nervous tissue. *Science* 1973;179:1011-4.
54. Hughes J, Smith TW, Kosterlitz HW, Fothergill LA, Morgan BA, Morris HR. Identification of two related pentapeptides from the brain with potent opiate agonist activity. *Nature* 1975;258:577-80.
55. Lord JA, Waterfield AA, Hughes J, Kosterlitz HW. Endogenous opioid peptides: multiple agonists and receptors. *Nature* 1977;267:495-9.
56. Mollereau C, Parmentier M, Mailleux P, Butour JL, Moisand C, Chalon P, Caput D, Vassart G, Meunier JC. ORL1 a novel member of the opioid receptor family Cloning functional expression and localization. *FEBS Letters* 1994;14:33-8.
57. Mansour A, Fox CA, Akil H, Watson SJ. Opioid-receptor mRNA expression in the rat CNS: anatomical and functional implications. *Trends Neurosci.* 1995;18:22-9.
58. Kalyuzhny AE, Wessendorf MW. Relationship of mü and delta opioid receptors to GABAergic neurons in the central nervous system, including antinociceptive brainstem circuits. *J Comp Neurol.* 1998;392:528-47.
59. Martin-Schild S, Gerall AA, Kastin AJ, Zadina JE. Differential distribution of endomorphin 1- and endomorphin 2-like immunoreactivities in the CNS of the rodent. *J Comp Neurol.* 1999;405:450-71.
60. Terenius L, Wahlström A. Search for an endogenous ligand for the opiate receptor. *Acta Physiol Scand.* 1975;94:74-81.
61. Kosterlitz HW, Waterfield AA. In vitro models in the study of structure-activity relationships of narcotic analgesics. *Annu Rev Pharmacol.* 1975;15:29-47.
62. Bradbury AF, Smyth DG, Snell CR, Birdsall NJM, Hulme EC. C-fragment of lipotropin has a high affinity for brain opiate receptors. *Nature* 1976;260:793-5.
63. Belluzzi JD, Stein L. Enkephalin may mediate euphoria and drive reduction reward. *Nature* 1977;266:556-8.
64. Van Ree JM, Smyth DG, Colpaert FC. Dependence creating properties of lipotropin C-fragment (beta-endorphin): evidence for its internal control of behavior. *Life Sci.* 1979;24:495-502.

65. Goldstein A, Tachibana S, Lowney LI, Hunkapiller M, Hood L. Dynorphin-(1-13), an extraordinarily potent opioid peptide. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1979;76:6666-70.
66. Nakanishi S, Inoue A, Kita T, Nakamura M, Chang AC, Cohen SN, Numa S. Nucleotide sequence of cloned cDNA for bovine corticotropin-beta-lipotropin precursor. *Nature* 1979;29:423-7.
67. Kakidani H, Furutani Y, Takahashi H, Noda M, Morimoto Y, Hirose T, Asai M, Inayama S, Nakanishi S, Numa S. Cloning and sequence analysis of cDNA for porcine beta-neo-endorphin/dynorphin precursor. *Nature* 1982;15:245-9.
68. Akil H, Watson SJ, Young E, Lewis ME, Khachaturian H, Walker JM. Endogenous opioids: biology and function. *Annu Rev Neurosci.* 1984;7:223-55.
69. Khachaturian H, Lewis EJ, Schafer MK, Watson SJ. Anatomy of the CNS opioid systems. *Trends Neurosci.* 1985;3:111-9.
70. Simon E, Hiller J, Edelman L. Stereospecific binding of the potent narcotic analgesic 3H-etorphine to rat brain homogenate. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1973;70:1947-1949.
71. Simon EJ. Opioid receptors and endogenous opioid peptides. *Med Res Rev.* 1991;11:357-74.
72. Chavkin C, James IF, Goldstein A. Dynorphin is a specific endogenous ligand of the kappa opioid receptor. *Science* 1982;22:413-5.
73. Finley JC, Lindström P, Petrusz P. Immunocytochemical localization of beta-endorphin-containing neurons in the rat brain. *Neuroendocrinology* 1981;33:28-42.
74. Dalayeun JF, Norès JM, Bergal S. Physiology of beta-endorphins, A close-up view and a review of the literature. *Biomed Pharmacother.* 1993;47:311-20.
75. Berzci I, Chalmers IM, Nagy E, Warrington RJ. The immune effects of neuropeptides. *Baillieres Clin Rheumatol* 1996;10:227-57.
76. Charmandari E, Tsigos C, Chrousos G. Endocrinology of the stress response. *Annual Review of Physiology* 2005;67:259-84.
77. Bloom FE, Rossier J, Battenberg EL, Bayon A, French E, Henriksen SJ, Siggins GR, Segal D, Browne R, Ling N, Guillemin R. Beta-endorphin: cellular localization, electrophysiological and behavioral effects. *Adv Biochem Psychopharmacol.* 1978;18:89-109.
78. Zakarian S, Smyth DG. Beta-Endorphin is processed differently in specific regions of rat pituitary and brain. *Nature* 1982;18:250-2.
79. Foley KM, Kourides IA, Inturrisi CE, Kaiko RF, Zaroulis CG, Posner JB, Houde RW, Li CH. beta-Endorphin: analgesic and hormonal effects in humans. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1979;76:5377-81.
80. Loh HH, Tseng LF, Wei E, Li CH, Beta-endorphin is a potent analgesic agent. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1976;73:2895-8.
81. Tseng LF, Wang Q. Forebrain sites differentially sensitive to beta-endorphin and morphine for analgesia and release of Met-enkephalin in the pentobarbital-anesthetized rat. *J Pharmacol Exp Ther.* 1992;61:1028-36.

82. Van Ree JM, De Wied D, Bradbury AF, Hulme EC, Smyth DC, Snell CR. Induction of tolerance to the analgesic action of lipotropin in C-fragment. *Nature* 1976;23:792-4.
83. Amalric M, Cline EJ, Martinez JL Jr, Bloom FE, Koob GF. Rewarding properties of beta-endorphin as measured by conditioned place preference. *Psychopharmacology* 1987;91:14-9.
84. Bals-Kubik R, Shippenberg TS, Herz A. Involvement of central mu and delta opioid receptors in mediating the reinforcing effects of beta-endorphin in the rat. *Eur J Pharmacol* 1990;3:63-9.
85. Ng TB, Chung D, Li CH. Isolation and properties of beta-endorphin-(1-27), N alpha-acetyl-beta-endorphin, corticotropin, gamma-lipotropin and neurophysin from equine pituitary glands. *Int J Pept Protein Res.*1981;18:443-50.
86. Hammonds RG Jr, Nicolas P, Li CH. Beta-endorphin-(1-27) is an antagonist of beta-endorphin analgesia. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1984;81:1389-90.
87. Nicolas P, Li CH. B-endorphine 1-27 is a naturally occurring antagonist to etorphine-induced analgesia. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1985;82:3178-3181.
88. Bals-Kubik R, Herz A, Shippenberg TS. b-endorphin1-27 is a naturally occurring antagonist of the reinforcing effect of opioids. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.* 1988;338:392-6.
89. Spanagel R, Herz A, Bals-Kubik R, Shippenberg TS. Beta-endorphin-induced locomotor stimulation and reinforcement are associated with an increase in dopamine release in the nucleus accumbens. *Psychopharmacology* 1991;104: 51-6.
90. Parish DC, Smyth DG, Normanton JR, Wolstencroft JH. Glycyl-glutamine, an inhibitory neuropeptide derived from B-endorphin. *Nature* 1983;306:267-70.
91. Resch GE, Millington WR. Glycyl-L-glutamine antagonizes alpha-MSH-elicited thermogenesis. *Peptides* 1993;14:971-5.
92. Unal CB, Owen MD, Millington WR. Cyclo(Gly-Gln) inhibits the cardiorespiratory depression produced by B-endorphine and morphine. *Brain Res.* 1997;747:52-9.
93. Simpson CW, Resch GE, Millington WR, Myers RD. Glycyl-L-glutamine injected centrally supresses alcohol drinking in P rats. *Alcohol* 1998;16:101-7.
94. Chinta SJ, Andersen JK. Dopaminergic neurons. *Int J Biochem Cell Biol.*2005;37:942-6.
95. Westerink BH. Further studies on the sequence of dopamine metabolism in the rat brain. *Eur J Pharmacol.* 1979;1:313-22.
96. Westerink BH, De Vries JB. On the origin of dopamine and its metabolite in predominantly noradrenergic innervated brain areas. *Brain Res.* 1985;18: 164-6.
97. Mannisto PT, Ulmanen I, Lundström K, Taskinen J, Tenhunen J, Tilgmann C, Kaakkola S. Characteristics of catechol O-methyl-transferase (COMT) and properties of selective COMT inhibitors. *Prog in Drug Res.* 1992;39:291-350.

98. Missale C, Nash SR, Robinson SW, Jaber M, Caron MG. Dopamine receptors: from structure to function. *Physiol Rev.* 1998;78:189-225.
99. Civelli O, Bunzow JR, Grandy DK. Molecular diversity of the dopamine receptors. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 1993;33:281–307.
100. Jay TM. Dopamine: a potential substrate for synaptic plasticity and memory Mechanisms. *Prog Neurobiol* 2003;69:375-90.
101. Ridray S, Griffon N, Mignon V, Souil E, Carboni S, Diaz J. Coexpression of dopamine D1 and D3 receptors in islands of Calleja and shell of nucleus accumbens of the rat: opposite and synergistic functional interactions. *Eur J Neurosci.* 1998;10:1676-86.
102. Sokoloff P, Giros B, Martres MP, Bouthenet ML, Schwartz JC. Molecular cloning and characterization of a novel dopamine receptor (D3) as a target for neuroleptics. *Nature* 1990;347:146–51.
103. Suzuki M, Hurd YL, Sokoloff P, Schwartz JC, Sedvall G. D3 dopamine receptor mRNA is widely expressed in the human brain. *Brain Res.* 1998;779:58-74.
104. Kelley AE, Smith-Roe SL, Holahan MR. Response-reinforcement learning is dependent on N-methyl-D-aspartate receptor activation in the nucleus accumbens core. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1997;94:12174-9.
105. Franklin KBJ, Vaccarino FJ. Differential effects of amphetamine isomers on SN self-stimulation: evidence for DA neuron subtypes. *Pharmacol Biochem Behav.* 1983;18:747–51.
106. Kornetsky C, Esposito RU. Reward and detection thresholds for brain stimulation: dissociative effects of cocaine. *Brain Res.* 1981;209:496-500.
107. Self DW, Barnhart WJ, Lehman DA, Nestler EJ. Opposite modulation of cocaine-seeking behavior by D-1 and D-2 like dopamine receptor agonists. *Science* 1996;271:1586-9.
108. Uzbay IT (editör). Nöropsikofarmakoloji rasyonel ilaç kullanımı. İstanbul: Medikal Yayıncılık; 2007. 151-2.
109. Stolerman I. Drugs of abuse: behavioural principles, methods and terms. *Trends Pharmacol Sci.* 1992;13:170-6.
110. O'Brien CP. Drug addiction and abuse. In: Hardman JG, Limbrid LE, Molinoff PB, Ruddon RW, Gilman AG (eds). *Goodman and Gilman's the pharmacological basis of therapeutics.* New York: Mc Graw Hill; 1996. 557-77.
111. De Vries TJ, Shippenberg TS. Neural systems underlying opiate addiction. *J Neurosci.* 2002;1:3321-5.
112. Valjent E, Pages C, Herve D, Girault J-A, Caboche J. Addictive and non-addictive drugs induce distinct and specific patterns of ERK activation in mouse brain. *Eur J Neurosci.* 2004;19:1826-36.
113. Goodman A. Neurobiology of addiction an integrative review. *Biochem Pharmacol.* 2008;75:266-322.
114. Schoffelmeer AN, De Vries TJ, Vanderschuren LJ, Tjon GH, Nestby P, Wardeh G, Mulder AH. Glucocorticoid receptor activation potentiates the morphine-induced adaptive increase in dopamine D-1 receptor

- efficacy in gamma-aminobutyric acid neurons of rat striatum/nucleus accumbens. *J Pharmacol Exp Ther.* 1995;274:1154-60.
115. Bontempi B, SHARP FR. Systemic Morphine-Induced Fos Protein in the Rat Striatum and Nucleus Accumbens Is Regulated by μ Opioid Receptors in the Substantia Nigra and Ventral Tegmental Area. *J Neurosci.* 1997;17:8596-612.
 116. Chieng B, Williams JT. Increased opioid inhibition of GABA release in nucleus accumbens during morphine withdrawal. *J Neurosci.* 1998;18 :7033-9.
 117. De Vries TJ, Schoffelmeer ANM, Binnekade R, Reaso H, Vanderschuren LJM. Relapse to cocaine- and heroin-seeking behavior mediated by dopamine d2 receptors is time-dependent and associated with behavioral sensitization. *Neuropsychopharmacology* 2002;26:18-26.
 118. Mizuno T, Schmauss C, Rayport S. Distinct roles of presynaptic dopamine receptors in the differential modulation of the intrinsic synapses of medium-spiny neurons in the nucleus accumbens. *BMC Neurosci* 2007;8:8.
 119. Czubayko U, Plenz D. Fast synaptic transmission between striatal spiny projection neurons. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2002;99 :15764-9.
 120. Gustafson N, Gireesh-Dharmaraj E, Czubayko U, Blackwell KT, Plenz D. A comparative voltage and current-clamp analysis of feedback and feedforward synaptic transmission in the striatal microcircuit in vitro. *J Neurophysiol.* 2006;95:737-52.
 121. Koos T, Tepper JM. Inhibitory control of neostriatal projection neurons by GABAergic interneurons. *Nat Neurosci.* 1999;2:467-72.
 122. Tepper JM, Bolam JP. Functional diversity and specificity of neostriatal interneurons. *Current Opinion in Neurobiology,* 2004;14:685-92.
 123. Robinson TE, Berridge KC. Addiction. *Ann Rev Psychol.* 2003;54:25-53.
 124. Guzman JN, Hernandez A, Galarraga E, Tapia D, Laville A, Vergara R, Aceves J,argas J. Dopaminergic modulation of axon collaterals interconnecting spiny neurons of the rat striatum. *J Neurosci.* 2003;23:8931-40.
 125. Blum K, Braverman ER, Holder JM, Lubar JF, Monastra VJ, Miller D, Lubar JO, Chen TJ, Comings DE. Reward deficiency syndrome: a biogenetic model for the diagnosis and treatment of impulsive, addictive, and compulsive behaviors. *J Psychoactive Drugs* 2000;32:1-112.
 126. Comings DE, Blum K. Reward deficiency syndrome: genetic aspects of behavioral disorders. *Prog Brain Res.* 2000;126:325-41.
 127. Bowirrat A, Oscar-Berman M. Relationship between dopaminergic neurotransmission, alcoholism, and Reward Deficiency syndrome. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet.* 2005;5:29-37.
 128. Uzbay IT, Usanmaz SE, Tapanyığıt EE, Aynacıoğlu S, Akarsu ES. Dopaminergic and serotonergic alterations in the rat brain during ethanol withdrawal: association between behavioral signs. *Drug Alcohol Depend.* 1998;53:39-47.

129. Uzbay IT, Usanmaz SE, Akarsu ES. Effects of chronic ethanol administration on serotonin metabolism in the various regions of the rat brain. *Neurochem Res.* 2000;25:257-62.
130. Tork I. Anatomy of the serotonergic system. *Ann N Y Acad Sci.* 1990;600:9-35.
131. Sutton LC, Grahn RE, Wiertelak EP, Watkins LR, Maier SF. Inescapable shock-induced potentiation of morphine analgesia in rats: involvement of opioid, GABAergic, and serotonergic mechanisms in the dorsal raphe nucleus. *Behav Neurosci.* 1997;111:816-24.
132. Grauer SM, Tao R, Auerbach SB. Morphine induces an increase in extracellular serotonin in the rat diencephalon. *Brain Res.* 1992;599:277-82.
133. Tao R, Auerbach SB. Involvement of the dorsal raphe but not median raphe nucleus in morphine-induced increases in serotonin release in the rat forebrain. *Neurosci.* 1995;68:553-61.
134. Guan X-M and McBride WJ. Serotonin microinfusion into the ventral tegmental area increases accumbens dopamine release. *Brain Res Bull.* 1989;23:541-7.
135. Benloucif S, Keegan MJ, Galloway MP. Serotonin-facilitated dopamine release in vivo: pharmacological characterization. *J Pharmacol Exp Ther.* 1993;265:373-7.
136. Parsons LH, Justice JB Jr. Perfusate serotonin increases extracellular dopamine in the nucleus accumbens as measured by in vivo microdialysis. *Brain Res.* 1993;606:195-9.
137. Cervo L, Romandini S, Samanin R. Evidence that 5-hydroxytryptamine in the forebrain is involved in naloxone-precipitated jumping in morphine-dependent rats. *Br J Pharmacol.* 1983;79:993-6.
138. Carboni E, Acquas E, Frau R, Di Chiara G. Differential inhibitory effects of a 5-HT₃ antagonist on drug-induced stimulation of dopamine release. *Eur J Pharmacol.* 1989;164:515-9.
139. Harris GC, Aston-Jones G. Augmented accumbal serotonin levels decrease the preference for a morphine associated environment during withdrawal. *Neuropsychopharmacology* 2001;24:75-85.
140. Bourdelais A, Kalivas PW. Amphetamine lowers extracellular GABA concentration in the ventral pallidum. *Brain Res.* 1990;14:132-6.
141. Caille S, Parsons LH. Cannabinoid modulation of opiate reinforcement through the ventral striatopallidal pathway. *Neuropsychopharmacology* 2006;31:804-13.
142. Gysling K, Wang RY. Morphine-induced activation of A10 dopamine neurons in the rat. *Brain Res.* 1983;24:119-27.
143. Dilts RP, Kalivas PW. Autoradiographic localization of mu-opioid and neurotensin receptors within the mesolimbic dopamine system. *Brain Res.* 1989;29: 311-27.
144. Renno WM, Mullett MA, Beitz AJ. Systemic morphine reduces GABA release in the lateral but not the medial portion of the midbrain periaqueductal gray of the rat. *Brain Res.* 1992;30:221-32.

145. Starr MS. Multiple opiate receptors may be involved in suppressing gamma-aminobutyrate release in substantia nigra. *Life Sci.* 1985;16:2249-55.
146. Fonnum F. Glutamate: a neurotransmitter in mammalian brain. *J Neurochem.* 1984;42:1-11.
147. Groenewegen HJ, Wright CI, Beijer AV. The nucleus accumbens: gateway for limbic structures to reach the motor system? *Prog Brain Res.* 1996;107:485-511.
148. Heimer L, Alheid GF, de Olmos JS, Groenewegen HJ, Haber SN, Harlan R, Zahm DS. The accumbens: beyond the core shell dichotomy. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci.* 1997;9:354-81.
149. Wolf ME. The role of excitatory amino acids in behavioral sensitization to psychomotor stimulants. *Prog Neurobiol.* 1998;54:679-720.
150. Groenewegen HJ, Wright CI, Beijer AV, Voorn P. Convergence and segregation of ventral striatal inputs and outputs. *Ann N Y Acad Sci.* 1999;877:49-63.
151. Geisler S, Derst C, Veh RW, Zahm DS. Glutamatergic afferents of the ventral tegmental area in the rat. *J Neurosci.* 2007;27: 5730-43.
152. Kalivas PW, O'Brien C. Drug addiction as a pathology of staged neuroplasticity. *Neuropsychopharmacology* 2008;33:166-180.
153. Kelley AE, Domesick VB, Nauta WJH. The amygdalostriatal projection in the rat-an anatomical study by anterograde and retrograde tracing methods. *Neurosci.* 1982;7:615-30.
154. Swanson LW. The projections of the ventral tegmental area and adjacent regions: a combined fluorescent retrograde tracer and immunofluorescence study in the rat. *Brain Res Bull.* 1982;9:321-53.
155. Phillipson OT, Griffiths AC. The topographic order of inputs to nucleus accumbens in the rat. *Neurosci.* 1985;16:275-96.
156. Kalivas PW, Lalumiere RT, Knackstedt L, Shen H. Glutamate transmission in addiction. *Neuropharmacol.* 2009;56:169-73.
157. Paxinos G, Watson C. *The rat brain in stereotaxic coordinates.* New York: Academic Pres; 1986.
158. De Boer A (Bert) G, Sutanto W (eds). *Drug transport across the blood brain barrier in vitro and in vivo techniques.* Amsterdam: Harwood Academic Publishers; 1997. 168.
159. Airavaara M, Mijatovic J, Vihavainen T, Piepponen TP, Saarma M, Ahtee L. In heterozygous GDNF knockout mice the response of striatal dopaminergic system to acute morphine is altered. *Synapse* 2006;59:321-9.
160. Di Chiara G, Imperato A. Drugs abused by humans preferentially increase synaptic dopamine concentrations in the mesolimbic system of freely moving rats. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1988;85:5274 -78.
161. Maisonneuve IM, Warner LM, Glick SD. Biphasic dose-related effect of morphine on dopamine release. *Drug Alcohol Depend.* 2001;65:55-63.
162. Sotomajor R, Forray MI, Gysling K. Acute morphine administration increases extracellular DA levels in the rat lateral septum by decreasing the GABAergic inhibitory tone in the ventral tegmental area. *J Neurosci Res.* 2005;81:132-9.

163. Di Chiara G, Bassareo V, Fenu S, De Luca MA, Spina L, Cadoni C, Acquas E, Carboni, Valentini V, Lecca D.. Dopamine and drug addiction: the nucleus accumbens shell connection. *Neuropharmacol.* 2004;47:227-41.
164. Smith JE, Guerin GF, Co C, Barr TS, Lane J. Effects of 6-hydroxydopamine lesions of the central medial nucleus accumbens on rat intravenous morphine self-administration. *Pharmacol Biochem Behav.* 1985; 23: 843–9.
165. Wise RA, Rompre PP. Brain dopamine and reward. *Annu Rev Psychol.* 1989;40:191-225.
166. Harris GC, Aston-Jones G. Involvement of D2 dopamine receptors in the nucleus accumbens in the opiate withdrawal syndrome. *Nature* 1994;371:155-7.
167. Laviolette SR, Nader K, Van der Kooy D. Motivational state determines the functional role of the mesolimbic dopamine system in the mediation of opiate reward processes. *Behav Brain Res.* 2002;129:17-29.
168. Ron D, Jurd D. The “ups and downs” of signaling cascades in addiction. *Sci STKE.* 2005;309:re14.
169. Bozart MA, Wise RA. Intracranial self-administration of morphine into the ventral tegmental area in rats. *Life Sci.* 1981;28:551-5.
170. Bozart MA. Neuroanatomical boundaries of the reward relevant opiate-receptor field in the ventral tegmental area as mapped by the conditioned place preference method in rats. *Brain Res.* 1987;414:77-84.
171. Nazzaro JM, Seeger TF, Gardner EL. Morphine differentially affects ventral tegmental and substantia nigra brain reward thresholds. *Pharmacol Biochem Behav.* 1981;14:325-31.
172. Bals-Kubik R, Ableitner A, Herz A, Shippenberg TS. Neuroanatomical sites mediating the motivational effects of opioids as mapped by the conditioned place preference paradigm in rats. *J Pharmacol Exp Ther.* 1993;264:489-95.
173. Matthews RT, German DC, Electrophysiological evidence for excitation of rat ventral tegmental area dopamine neurons by morphine. *Neurosci.* 1984;11:617-25.
174. Melis M, Gessa GL, Diana M. Different mechanisms for dopaminergic excitation induced by opiates and cannabinoids in the rat midbrain. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 2000;24:993-1006.
175. Yeomans JS, Kofman O, McFarlane V. Cholinergic involvement in lateral hypothalamic rewarding brain stimulation. *Brain Res.* 1985;329:19-26.
176. Blaha CD, Winn P. Modulation of dopamine efflux in the striatum following cholinergic stimulation of the substantia nigra in intact and pedunculo-pontine tegmental nucleus-lesioned rats. *J Neurosci.* 1993;13:1035–44.
177. Winn P. Cholinergic stimulation of substantia nigra: effects on feeding, drinking and sexual behaviour in the male rat. *Psychopharmacol.* 1991;104:208-14.

178. Chintoh A, Fulton J, Koziel N, Aziz M, Sud M, Yeomans JS. Role of cholinergic receptors in locomotion induced by scopolamine and oxotremorine-M. *Pharmacol Biochem Behav.* 2003;76:53–61.
179. Vilaro MT, Palacios JM, Mengod G. Localization of m5 muscarinic receptor mRNA in rat brain examined by in situ hybridization histochemistry. *Neurosci Lett.* 1990;114:154-59.
180. Weiner DM, Levey AL, Brann MR. Expression of muscarinic acetylcholine and dopamine receptor mRNAs in rat basal ganglia. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1990;87:7050-4.
181. Reever CM, Ferrari-DiLeo G, Flynn DD. The M5 (m5) receptor subtype: fact or fiction? *Life Sci.* 1997;60:1105-12.
182. Miller AD, Forster GL, Yeomans JS, Blaha CD. Midbrain muscarinic receptors modulate morphine-induced accumbal and striatal dopamine efflux in the rat. *Neuroscience* 2005;136:531-8.
183. Yeomans JS, Takeuchi J, Baptista M, Flynn DD, Lepik K, Nobrega J, Fulton J, Ralph MR. Brain stimulation reward thresholds raised by an antisense oligonucleotide for the M5 muscarinic receptor infused near dopamine cells. *J Neurosci.* 2000;20:8861-7.
184. Yeomans J, Forster G, Blaha C. M5 muscarinic receptors are needed for slow activation of dopamine neurons and for rewarding brain stimulation. *Life Sci.* 2001;68:2449-56.
185. Basile AS, Fedorova I, Zapata A, Liu X, Shippenberg T, Duttaroy A, Yamada M, Wess J. Deletion of the M5 muscarinic acetylcholine receptor attenuates morphine reinforcement and withdrawal but not morphine analgesia. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2002;99:11452–7.
186. Bronstein DM, Przewlocki R, Akil H. Effects of morphine treatment on pro-opiomelanocortin systems in rat brain. *Brain Res.* 1990 11;519:102-11.
187. Unal CB, Owen MD, Millington WR. Inhibitor of B-endorphin-induced cardiorespiratory depression by glycyl-glutamine, a dipeptide derived from B-endorphin processing. *J Pharmacol Exp Ther.* 1994;271:952-8.
188. Ma YY, Meng L, Guo CY, Han JS, Lee DY, Cui CL. Dose-and time-dependent, context-induced elevation of dopamine and its metabolites in the nucleus accumbens of morphine-induced CPP rats. *Behav Brain Res.* 2009; 204:192-9.

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince bana her konuda yardımcı olan, emek harcayan ve uzmanlık tezimi hazırlamamda önemli katkıları bulunan başta tez danışmanım Doç. Dr. Sinan ÇAVUN'a olmak üzere Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı öğretim üyeleri; Prof. Dr. Levent BÜYÜKUYSAL, Prof. Dr. Vahide SAVCI, Prof. Dr. Mine Sibel GÜRÜN, Doç. Dr. Gökhan GÖKTALAY, Doç. Dr. Mehmet CANSEV'e, uzmanlık eğitimim boyunca beraber çalışmaktan mutluluk duyduğum arkadaşlarım Dr. Cenk COŞKUN, Dr. Sema ORAL, Dr. Fulya KANAR, Dr. Hasret YÜCEL ÖZBÖLÜK'e, tüm teknik bilgisini ve arkadaşlığını benimle paylaşan Kimyager Sami AYDIN'a teşekkürlerimi sunarım.

Her konuda bana destek olan sevgili eşim Özcan BAŞARAN'a, her zaman yanımda olan ve desteğini hiçbir zaman esirgemeyen canım kardeşim Meryem FİLİZ BAŞTÜRK'e, bugünlere gelmemde çok büyük emekleri olan anne ve babama sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışma TÜBİTAK (SBAG 106S152) ve Uludağ Üniversitesi BAP (2007/22) tarafından desteklenmiştir.

ÖZGEÇMİŞ

23 Temmuz 1979 Bulgaristan doğumluyum. İlk öğrenimimin üç yılını Kilikadı Hristo Botev ilkokulunda aldım. 1989 yılında ailemle Türkiye'ye göç edip Tekirdağ'a yerleştik. İlk öğrenimimin 4 ve 5. sınıfına Tekirdağ Atatürk İlkokulu'nda devam ettim. 1991-1998 yılları arasında Tekirdağ Anadolu Lisesi'nde orta ve lise öğrenimimi tamamladım. 1998-2004 yılları arasında Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesinde eğitim alıp tıp doktoru ünvanı ile mezun oldum. 7 Kasım 2005 tarihinde Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalında araştırma görevlisi olarak çalışmaya başladım. Evliyim.