

İmidazolin-2 Reseptörlerinin Rolünün İn Vivo Morfin Bağımlılığı Modelinde Araştırılması

Zehra Çetin¹, Tijen Utkan², Alan Hudson³, Feyza Arıcıoğlu¹

¹Marmara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Farmakoloji Anabilim Dalı ve Psikofarmakoloji Araştırma Birimi, Haydarpaşa, İstanbul-Türkiye

²Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi, Farmakoloji Anabilim Dalı ve Deneysel Tıp Araştırma Birimi, Umuttepe, Kocaeli-Türkiye

³University of Alberta, Department of Pharmacology, Edmonton-Canada

Yazışma Adresi / Address reprint requests to: Feyza Arıcıoğlu

Marmara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Farmakoloji Anabilim Dalı ve Psikofarmakoloji Araştırma Birimi, Haydarpaşa, 34668, İstanbul-Türkiye

Telefon / Phone: +90-216-418-9573 Faks / Fax: +90-216-345-2952 Elektronik posta adresi / E-mail address: feyza.aricioglu@gmail.com

Kabul tarihi / Date of acceptance: 18 Temmuz 2011 / July 18, 2011

ÖZET

İmidazolin-2 reseptörlerinin rolünün in vivo morfin bağımlılığı modelinde araştırılması

Amaç: Bu çalışma son yıllarda tanımlanan imidazolin (I) reseptörlerinin özellikle I2 alt tipine seçici olarak bağlanan maddelerden yararlanarak söz konusu reseptörlerin morfin bağımlılığındaki etkisini araştırmak üzere planlanmıştır.

Yöntem: I2 reseptörlerinin agonisti olan 2-BFI ve antagonisti olan BU224 in vivo bağımlılık modellerinde kullanılmıştır. İn vivo bağımlılık Sprague-Dawley sıçanlara ciltaltı morfin peleti (toplam 150 mg) yerleştirilerek oluşturulmuştur. İmplantasyondan 72 saat sonra intraperitoneal (i.p.) olarak 2-BFI (3, 5 veya 10 mg/kg) veya BU224 (3, 5 veya 10 mg/kg) uygulamasından 30 dakika sonra nalokson (2 mg/kg) enjekte edilerek değerlendirilmiştir. Nalokson uygulamasının hemen ardından sıçanlar 15 dakika boyunca gözlenerek sıçrama, ıslak köpek titremesi, karın germe, defekasyon, pitozis, diş gıcırdatma, diyare, tremor gibi morfin yoksunluğu belirtileri kaydedilmiştir.

Bulgular: Hem 2-BFI hem de BU224 naloksonla yoksunluk sendromu oluşturmadan önce uygulandığında yoksunluk semptomlarını doza bağımlı bir biçimde baskılanmıştır. 2-BFI'nin en düşük dozu (3 mg/kg) sıçramada ve BU224'ün en düşük dozu (3 mg/kg) ıslak köpek titremesi ve kilo kaybında etkisiz bulunmuştur.

Sonuç: Hem 2-BFI hem de BU224'ün yoksunluk semptomlarını baskıladığı gösterilmiştir. Bu çalışmanın sonuçları I sisteminin belki kısmen reseptörleri aracılığıyla belki de farklı mekanizmaları kullanarak morfin bağımlılığı ve/veya yoksunluğunda önemli rolü olduğunu düşündürmektedir.

Anahtar sözcükler: 2-BFI, BU224, imidazolin-2 reseptörleri, bağımlılık, morfin

ABSTRACT

Investigating the role of imidazoline-2 receptors in in vivo model of morphine dependence

Objective: The present study was designed to investigate the effects of imidazoline (I) receptors, especially I2 subtype, in in vivo morphine dependence.

Methods: In vivo study was done by observing behavioural signs of morphine withdrawal in morphine dependent rats after treatment with selective I2 receptor agonist 2-BFI and selective I2 receptor antagonist BU224. Two morphine pellets, each containing 75 mg of morphine base, were implanted subcutaneously in the scapular area of Sprague-Dawley rats. Seventy-two hours after morphine implantation, 2-BFI (3, 5, 10 mg/kg), BU224 (3, 5, 10 mg/kg) or saline was injected to rats intraperitoneally (i.p.). Thirty minutes later, a morphine withdrawal syndrome was precipitated by naloxone (2 mg/kg). Just after the naloxone injection, morphine withdrawal signs such as jumping, wet dog shakes, teeth chattering, defecation, diarrhea, tremor and ptosis were observed and evaluated for 15 min.

Results: Both 2-BFI and BU224, which are administered before naloxone-precipitated withdrawal syndrome, attenuated withdrawal symptoms dose dependently. Low doses of 2-BFI (3 mg/kg) on jumping and low dose of BU224 were found ineffective on wet dog shakes and weight lost.

Conclusion: The present study showed that both 2-BFI and BU224 attenuated the intensity of many signs of the naloxone-precipitated morphine withdrawal syndrome in rats. Based on these findings, it is thought that imidazoline system may play an important role in morphine dependence and morphine withdrawal, via its receptors or/and other mechanisms.

Key words: 2-BFI, BU224, imidazoline-2 receptors, dependence, morphine

GİRİŞ

Morfin, halen kullanılan en potent analjezik ilaçtır ve özellikle kronik olarak kanser hastalarında kullanılmaktadır

(1,2). Bu nedenle ilaç olarak değerini yıllardır sürdürmekle beraber kuvvetli bağımlılık potansiyeli oluşturan ilaçlar arasında yer alması ve bırakıldığında güçlü yoksunluk fenomeni oluşturması kullanımını kısıtlamaktadır (2). Bu nedenle

morfin bağımlılığı halen önemli bir sorun oluşturmaktadır ve engellemeye yönelik çok sayıda araştırma yapılmaktadır. Dolayısıyla gerek opioid bağımlılığında rolü olan anatomik bölgeler ve bu bölgelerde bağımlılık ve/veya yoksunluk sırasında meydana gelen değişiklikler gerekse bağımlılık mekanizmalarında rolü olan nörotransmitter sistemleri yoğun olarak araştırılmaktadır. Opioid bağımlılığında lokus seruleus'un (LC) önemli rolü olduğu bilinmektedir. Morfinin LC'deki nöronların uyarılmasını burada bulunan mü opioid reseptörler aracılığı ile inhibe ettiği in vivo ve in vitro birçok çalışma ile gösterilmiştir (3). Morfinin kronik uygulaması ile LC'deki hücreler üzerindeki inhibitör etkisinin azaldığı (tolerans) ve morfin yoksunluğuyla bu nöronlarda hiperaktivite olduğu elektrofizyolojik çalışmalarla gösterilmiştir. Bu nedenle LC'deki aktivite artışı ve morfin yoksunluğu sırasında gözlenen davranışsal belirtilerin şiddeti arasında korelasyon olduğu kabul edilir (4). Fiziksel bağımlılıkta rolü olduğu düşünülen çeşitli nörotransmitter sistemleri ve reseptörler vardır. Bunlardan biri de I reseptörleridir. İlk kez Pascal Bosquet ve arkadaşları 1984 yılında I reseptörlerinin varlığını öne sürmüşlerdir (5). İmidazolin yapısındaki bileşiklerin hipotansif etki profili ile bunların I reseptörlerine olan afiniteleri arasında pozitif bir korelasyon bulmuşlar ve I reseptörlerini non-adrenerjik bağlanma bölgeleri olarak tanımlamışlardır (6-8). Bugüne kadar I1, I2 ve I3 olmak üzere üç alttipi tanımlanmıştır (9,10). Çalışmalar genellikle I2 reseptörleri üzerine yoğunlaşmıştır çünkü bu reseptörlerin monoaminlerinin modülasyonunda rol oynadıkları düşünülmektedir (11). Birçok hastalıkta santral I2 reseptörlerinin yoğunluğunun değiştiği gösterilmiştir (11-15). İmidazolin 2 reseptörlerinin agonisti 2-BFI opioid reseptörlerine düşük afinite gösterirken, I2 reseptörlerine yüksek afiniteyle ve seçici olarak bağlanan bir maddedir (16). Morfin gibi direk olarak LC nöronlarını etkilediği ve hem morfine gelişen tolerans hem de LC nöronlarında yoksunlukla indüklenen hiperaktiviteyi azalttığı gösterilmiştir (4,17). Ayrıca 2-BFI'nın morfinle oluşan spinal analjeziye tolerans gelişmesini önlediği gösterilmiştir (18). Benzer şekilde morfin ve 2-BFI'nın birlikte uygulanmasının bağımlılığı baskılayabileceği de gösterilmiştir (4). İmidazolin 2 reseptörlerinin antagonisti BU224, I2 reseptörlerine yüksek afinite ile bağlanan aynı zamanda α_2 -adrenerjik reseptörlere de selektif olan kinolin türevidir (11). Nalokson ile oluşturulan morfin yoksunluğunda BU224'ün (10 mg/kg, i.p.) yoksunluğa bağlı olarak oluşan akut kilo kaybı ve diyareyi azalttığı gözlenmiştir (9).

Bu bilgiler ışığında I2 reseptörlerinin morfin bağımlılığı ve/veya yoksunluğunda önemli olabileceği düşünülmüştür. Gerek bağımlılığın mekanizmasının anlaşılmasına gerekse bağımlılığın tedavisine yeni yaklaşımlar sağlama potansiyelleri nedeniyle I2 reseptörlerinin etkilerinin in vivo morfin bağımlılığı modellerinde araştırılması planlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmada kullanılan Sprague-Dawley suşu erkek sıçanlar (210-250 g) Marmara Üniversitesi Deney Hayvanı Yetiştirme Ünitesi'nden temin edildi. Deneyler süresince 12 saat aydınlık – 12 saat karanlık döngü içerisinde yem ve su alımları serbest bırakılarak, sıcaklığı sabit tutulan (23±1 °C) hayvan saklama odasında, her kafeste 4 sıçan olacak şekilde barındırıldı. Deneyler her gün aynı saatte, günün aydınlık fazında gerçekleştirildi. Çalışma protokolü Marmara Üniversitesi Deney Hayvanı Etik Kurulu tarafından onaylandı. Baz morfinden (Toprak Mahsulleri Ofisi) her biri 75 mg morfin olacak şekilde peletler hazırlandı. Çalışmada kullanılan nalokson HCl (Sigma), 2-BFI HCl (Tokris) ve BU224 HCl (Tokris) serum fizyolojikte çözündürüldü ve intraperitoneal (i.p.) olarak uygulandı. Deney grupları aşağıdaki şekilde oluşturuldu:

Kontrol Grubu (n=10): Placebo pelet implante edildi ve 72 saat sonra önce serum fizyolojik, 30 dakika sonra nalokson enjekte edildi.

Morfin Grubu (n=10): Morfin peleti implante edildi ve 72 saat sonra önce serum fizyolojik, 30 dakika sonra nalokson enjekte edildi.

2-BFI Kontrol Grubu (n=10): Kontrol peleti implante edildi ve 72 saat sonra önce 2-BFI (3, 5 veya 10 mg/kg), 30 dakika sonra da nalokson enjekte edildi.

2-BFI Grubu (n=10): Morfin peleti implante edildi ve 72 saat sonra 2-BFI (3, 5 veya 10 mg/kg), 30 dakika sonra nalokson enjekte edildi.

BU-224 Kontrol Grubu (n=10): Kontrol peleti implante edildi ve 72 saat sonra önce BU-224 (3, 5 veya 10 mg/kg), 30 dakika sonra nalokson enjekte edildi.

BU-224 Grubu (n=10): Morfin peleti implante edildi ve 72 saat sonra BU224 (3, 5 veya 10 mg/kg), 30 dakika sonra nalokson enjekte edildi.

İn vivo morfin bağımlılık modeli

Sıçanların skapular alanına, hafif eter anestezisi altında

75 mg baz morfin içeren iki morfin peleti (toplam 150 mg) subkutan olarak implante edildi (19). Kontrol grubuna ise aynı koşullarda placebo (içerisinde morfin olmayan, sadece dolgu maddesi içeren) pelletler implante edildi. İmplantasyondan 72 saat sonra nalokson (2 mg/kg) tek başına veya 2-BFI (3, 5 veya 10 mg/kg) veya BU224 (3, 5 veya 10 mg/kg) enjekte edildikten 30 dakika sonra nalokson enjekte edildi. Deneyde kullanılan tüm maddeler i.p. olarak uygulandı.

Nalokson uygulamasının hemen ardından sıçanlar pleksiglas kafeslere (25×30 cm, 35 cm yüksekliğinde) konularak 15 dakika boyunca yoksunluk semptomları gözlemlendi. Yoksunluk semptomları kantitatif ve kalitatif olarak iki gruba ayrıldı. Sıçrama, ıslak köpek titremesi, kilo kaybı ve defekasyon kantitatif semptomlardır. Pitozis (0-3), dış gıcırdatma (0-10), diyare (0-3) ve tremor (0-3) ise kalitatif semptomlardır. Tüm semptomlar toplam gözlem süresi boyunca skorlandı. Pitozis skorlamasına göre göz kapağının tamamen açık olduğu pozisyon "0", göz kapağının tamamen kapalı olduğu pozisyon ise "3" olarak kabul edildi. Göz kapakları gözün yarısından azını kapatacak şekilde açık ise "1", gözün yarısından fazlasını kapatacak şekilde düşük ise "2" ile ifade edildi. Benzer şekilde diyare ve tremor sıklık ve şiddet değerlendirilerek skorlandı. Dış gıcırdatma davranışı tüm deney boyunca her başladığında kaydedildi ve toplam gözlem süresi içinde oranlanarak skorlandı. Buna göre gözlem süresi boyunca aralıksız dış gıcırdatan hayvan en yüksek skoru (10) aldı.

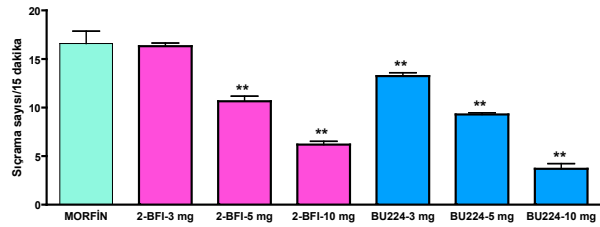
İstatistiksel Değerlendirme

Morfin yoksunluğu ile ortaya çıkan davranış değişikliklerinin değerlendirilmesi için gruplara ait değerler "ortalama ± standart hata" olarak ifade edildi. Verilerin istatistiksel analizinde kantitatif parametreler için tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ve sonrasında "Post-hoc Dunnett testi" uygulanarak değerlendirildi. Kalitatif parametreler ise Kruskal Wallis analizini takiben Mann-Witney U testi kullanılarak yapıldı. P değerinin 0,05'den küçük olduğu durumlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

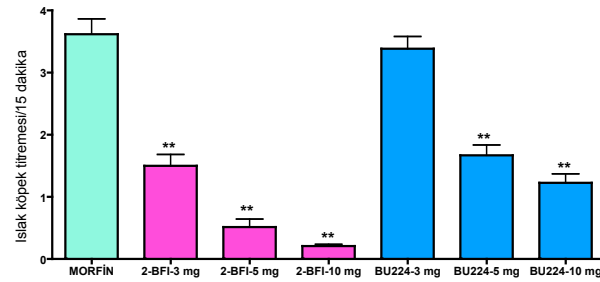
Deney sonuçlarından kantitatif yoksunluk semptomları olan sıçrama davranışı morfin grubunda 16.59 ± 3.37 idi ve 2-BFI'nin en düşük dozunda (3 mg/kg) 16.32 ± 0.32 idi. Ancak

daha yüksek dozlarda 5 mg/kg ile 10.65 ± 0.52 ve 10 mg/kg ile 6.18 ± 0.34 olmuştur ($p < 0,01$) (Şekil 1).



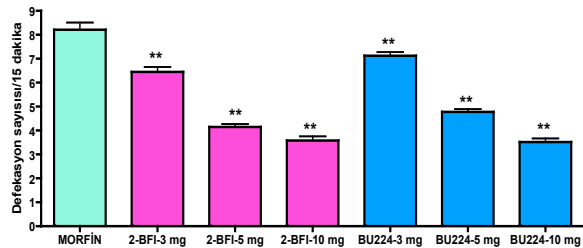
Şekil 1: Morfin yoksunluğuna bağlı sıçrama davranışı ve bunun 2-BFI veya BU224'ün farklı dozları ile tedavi sonrası değişimi. Değerler ortalama ± standart hata olarak ifade edilmiştir. **, $p < 0,01$ Morfin grubuna göre (n=70).

Islak köpek titremesi morfin bağımlı grupta 3.61 ± 0.24 idi ve 2-BFI ile doza bağımlı ve istatistiksel olarak anlamlı bir biçimde baskılanmıştır (sırasıyla 1.5 ± 0.18 , 0.51 ± 0.12 ve 0.21 ± 0.02) (Şekil 2).



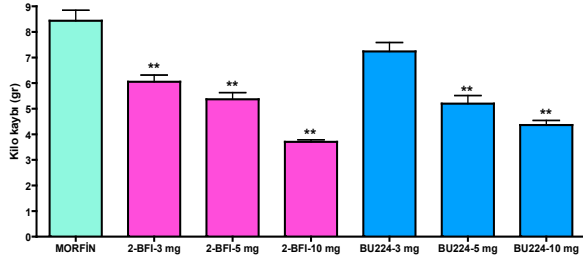
Şekil 2: Morfin yoksunluğuna bağlı ıslak köpek titremesi ve bunun 2-BFI veya BU224'ün farklı dozları ile tedavi sonrası değişimi. Değerler ortalama ± standart hata olarak ifade edilmiştir. **, $p < 0,01$ Morfin grubuna göre (n=70).

Defekasyon sayısı morfin bağımlı grupta 8.20 ± 0.30 , 3 mg/kg 2-BFI ile 6.45 ± 0.20 , 5 mg/kg 2-BFI ile 4.15 ± 0.11 ve 10 mg/kg 2-BFI ile 3.58 ± 0.17 olmuştur. Benzer etkiler BU224 ile elde edilmiştir. Buna göre 3 mg/kg BU224 ile 7.12 ± 0.15 , 5 mg/kg BU224 ile 4.78 ± 0.11 ve 10 mg/kg BU224 ile 3.51 ± 0.15 dir (Şekil 3).



Şekil 3: Morfin yoksunluğuna bağlı defekasyon sayısı ve bunun 2-BFI veya BU224'ün farklı dozları ile tedavi sonrası değişimi. Değerler ortalama ± standart hata olarak ifade edilmiştir. **, $p < 0,01$ Morfin grubuna göre (n=70).

Kilo kaybı 8.43 ± 0.41 iken 2-BFI ile doza bağımlı olarak azalmıştır (6.05 ± 0.25 , 5.36 ± 0.26 ve 3.71 ± 0.08). Antagonistin en düşük dozu etkisiz bulunmuş (7.24 ± 0.35) ancak yüksek dozları ile baskılanmıştır (5.20 ± 0.31 ve 4.36 ± 0.18) (Şekil 4).



Şekil 4: Morfin yoksunluğuna bağlı kilo kaybı ve bu kaybın 2-BFI veya BU224'ün farklı dozları ile tedavi sonrası değişimi. Değerler ortalama \pm standart hata olarak ifade edilmiştir. **, $p < 0.01$ Morfin grubuna göre ($n=70$)

Kalitatif morfin yoksunluk semptomları skorlandıktan sonra grup içi ortalama \pm standart hata değerleri alınmıştır (Tablo 1).

İn vivo morfin bağımlılığı modelinde morfin fiziksel bağımlılığı gelişmiş hayvanlara naloksonla yoksunluk sendromu oluşturmadan önce hem 2-BFI hem de BU224 uygulandığında yoksunluğun kantitatif semptomları (sıçrama, ıslak köpek titremesi, kilo kaybı, defekasyon) başta olmak üzere tüm semptomları doza bağımlı bir biçimde baskılanmıştır. Sıçramada 2-BFI'nın en düşük dozu (3 mg/kg) etkisiz kalırken ıslak köpek titremesi ve kilo kaybında BU224'ün en düşük dozu (3 mg/kg) etkisiz bulunmuştur. Dolayısıyla her iki madde de yoksunluk semptomlarını doza bağımlı bir biçimde baskılamıştır ve etki potansiyelleri neredeyse aynıdır.

Mekanizma ile ilgili ikinci olasılık, antagonistle ilgilidir. Özellikle BU224'ün etkisinin antagonistik olmaktan çok parsiyel agonistik bir etki olabileceği düşünülebilir. Çünkü antagonistin tek başına verilmesi ile agoniste son derece benzer etkiler elde edilmiştir. Bu verilere dayanarak antagonistin aslında bir parsiyel agonist olabileceği düşünülebilir. Bu çalışmanın en önemli eksiklerinden biri agonist ve antago-

Tablo 1: Kalitatif morfin yoksunluk semptomları. Değerler ortalama \pm standart hata olarak ifade edilmiştir. *, $p < 0.01$ Morfin grubuna göre ($n=70$)

Kalitatif Semptom	Pitozis	Diyare	Diş Gıcırdatma	Tremor	Salivasyon	Temizlenme/Süslenme	Ejekülasyon	Dokunmaya Tepki
Morfin	2.46 \pm 0,02	1,8 \pm 0,01	7,5 \pm 0,09	3,0 \pm 0,03	1,8 \pm 0,01	0,77 \pm 0,003	0,8 \pm 0,006	0,15 \pm 0,001
2-BFI 3 mg/kg	2,26 \pm 0,02	0,95 \pm 0,003*	4,2 \pm 0,07*	1,9 \pm 0,01*	1,72 \pm 0,01	0,5 \pm 0,002*	0,63 \pm 0,004	0,10 \pm 0,001*
2-BFI 5 mg/kg	2,2 \pm 0,01	0,72 \pm 0,002*	2,62 \pm 0,01*	0,1 \pm 0,001*	1,1 \pm 0,01*	0,35 \pm 0,001*	0,51 \pm 0,005*	0,09 \pm 0,002*
2-BFI 10 mg/kg	2,13 \pm 0,01	-	-	0,75 \pm 0,002*	0,8 \pm 0,001*	0,26 \pm 0,001*	0,46 \pm 0,002*	-
BU 224 3 mg/kg	2,35 \pm 0,01	1,01 \pm 0,01*	4,8 \pm 0,06*	1,6 \pm 0,01*	1,7 \pm 0,01	0,48 \pm 0,002*	0,72 \pm 0,006	0,13 \pm 0,001
BU 224 5 mg/kg	2,3 \pm 0,02	0,6 \pm 0,001*	2,5 \pm 0,01*	0,9 \pm 0,003*	1,5 \pm 0,02	0,32 \pm 0,001*	0,6 \pm 0,004*	0,10 \pm 0,001*
BU 224 10 mg/kg	2,0 \pm 0,02	-	-	0,5 \pm 0,002*	1,10 \pm 0,003*	0,23 \pm 0,002*	0,5 \pm 0,005*	0,07 \pm 0,002*

TARTIŞMA

Bu çalışmadan elde edilen sonuçlara göre iki temel bulgudan sözedilebilir:

i. İmidazolin 2 reseptörlerine bağlanan ligandlar in vivo morfin bağımlılığını doza bağımlı bir biçimde baskılamışlardır.

ii. İmidazolin 2 reseptörleri ile agonistik ve antagonistik ilişkileri olan iki madde son derece benzer etkiler göstermiştir.

nistin kombine edilerek verilmesi durumunda nalokson ile oluşturulan kasılma yanıtlarının değerlendirilmemiş olmasıdır. O nedenle antagonistin aslında bir parsiyel agonist olabileceği şeklindeki görüşümüz sadece bir hipotezdir. Ayrıca 2-BFI'nın morfinin supraspinal analjezik etkisini potansiyelize ettiği BU224'ün bu potansiyalizasyonu antagonize ettiğinin gösterilmesi bu hipotezi destekleyen bir diğer bulgudur (20). Bir üçüncü olasılık ise tıpkı beyinde striatumda antagonist uygulanmasının DA salınımı arttırdığının gösterilmesi

gibi periferde de benzer bir mekanizmanın söz konusu olabileceğidir. Daha önce yapılan bir çalışmada artmış DA düzeylerinin ileumda nalokson kontraktilesini doza bağımlı olarak azalttığı gösterilmiştir (9). Bu çalışmada da antagonistin neden olduğu DA salınımindaki artışın nalokson kasılmalarını azaltmış olması mümkündür. Aslında benzer bir mekanizma adrenerjik sistem üzerinden de geçerlidir. Çünkü BU224'ün frontal kortekste NAjik aktiviteyi arttırdığı gösterilmiştir. Aslında 2-BFI'nın DA düzeyleri üzerindeki etkisinin çok az olduğu, ancak NA üzerindeki etkilerinin benzer olduğu gösterilmiştir (21-23). Bu nedenle çalışmanın sonuçları hem DAjik hemde NAjik sistem üzerindeki modülatör rolü ile de açıklanabilir. İlginç olarak, bu ligandların frontal korteks ve hipokampusta NA üzerindeki etkilerinin MAO inhibitörlerinin ön uygulaması ile değişmediği de gösterilmiştir (10). Sonuç olarak BU224 ile elde edilen bulguların I2 üzerinden açıklanması mümkün görünmemektedir.

İlginç olarak I2 reseptörlerinin seçici ve potent agonisti kabul edilen 2-BFI ile aynı reseptörlerin yine seçici ve potent fakat antagonisti olarak tanımlanmış olan BU224'ün fonksiyonlarını tanımlanmak için daha önce yapılan çalışmalarda hem farklılıklar hem de benzerlikler gösterilmiştir. Bunların büyük kısmını oluşturan ve I2 reseptörlerinin santral etkilerinin araştırdığı çalışmalarda çoğu kez 2-BFI ve BU224'ün aynı/benzer etkiler oluşturduğu gösterilmiştir. In vivo mikrodializ çalışmalarıyla BU224 uygulamasının frontal korteks ve striatumda 5-HT ve DA seviyelerini arttırdığı, 2-BFI'nın ise benzer etki göstermekle birlikte etki gücünün çok daha az olduğu gösterilmiştir (9). Bir başka çalışmada hem 2-BFI hem de BU224'ün frontal korteks ve hipotalamusda 5-HT seviyelerini yükselttiği gösterilmiş ve her ikisinde aynı düzeyde antidepresan etki potansiyeline sahip oldukları bildirilmiştir. Dolayısıyla sözkonusu maddeler agonist ve antagonist olarak tanımlanmış olmakla birlikte fonksiyonel çalışmalar sırasında elde edilen sonuçlar bu görüşü tümüyle desteklememektedir.

Bir diğer grup sonuç I2 ligandlarının morfinin analjezik etkisi üzerine etkisinin araştırıldığı çalışmalardır. Bu çalışmalardan elde edilen genel kanı 2-BFI ve BU224'ün farklı etkiler oluşturabileceği yönündedir. Özellikle BU224'ün spinal analjezik etki oluşturduğu, bu etkinin idazoksan ile tamamen, yohimbin ile ise kısmen geri çevrilebildiği gösterilmiştir (24). Bu bulguya dayanarak BU224'ün oluşturduğu analjezik etkinin I2 reseptörleri aracılığıyla olduğu söylenmiştir. Buna karşın 2-BFI'nın morfinin supraspinal analjezik

etkisini potansiyelize ettiği, BU224'ün ise bu etkiyi antagonize ettiği de gösterilmiştir (20). Başka bir çalışmada 2-BFI'nın morfin ile birlikte uygulanmasının morfine gelişen toleransı baskılayabildiği gösterilmiştir (18). Bu veriler 2-BFI ve BU224'ün I2 reseptörleri üzerinde farklı intrinsik aktiviteleri olduğunu düşündürmektedir. Morfin bağımlılığı ile I2 reseptörlerinin ilişkisini araştıran bir grup çalışma vardır. Naloksonla oluşturulan in vivo yoksunlukta BU224'ün akut kilo kaybı ve diyareyi azalttığı gösterilmiştir (9). Literatürde bizim çalışmamıza çok benzeyen ve 2-BFI'nın morfin bağımlılığındaki etkilerinin araştırıldığı bir çalışma vardır. Bu çalışmada 2-BFI'nın akut uygulanmasının opioid agonistlerinin LC nöronlarını inhibe edici etkisini azalttığı, kronik uygulanmasının ise morfine tolerans gelişmesini LC'deki aktivite artışını doza-bağımlı olarak baskılayarak engellediği gösterilmiştir (4). Aslında hem lokal hem de sistemik 2-BFI uygulanmasının LC'de nöronal aktiviteyi arttırdığı, bu etkinin geri dönüşsüz MAO inhibitörleri ile geri çevrilebildiği de gösterilmiştir (17). Monoamin oksidaz inhibitörlerinin serebral NA düzeylerini arttırdığı düşünülmüştür (25,17). Bir başka in vitro çalışmada 2-BFI ve BU224'ün ayrı ayrı uygulanması durumunda LC'un nöronal aktivitesini arttırabilecekleri ancak ikisinin birlikte uygulanması ile additif etki oluşturmadıkları gösterilmiştir (25). Yukarıda sözü edilen çalışmalar morfin ile I2 reseptörleri ilişkisini düşündüren çalışmalardır ancak bu çalışmalarda yoksunluk sendromu üzerine etkileri araştırılmamıştır.

Bir diğer mekanizma nitriderjik ve glutamaterjik sistem üzerinden olabilir. Nitrik oksidin morfin bağımlılığında ve yoksunluk sendromunda rol oynadığı ve NOS inhibitörlerinin yoksunluk semptomlarını baskılayabildiği bilinmektedir (26-29). Gastrointestinal motilitedeki inhibisyon kısmen santral sinir sistemindeki nörotransmitter salgılanmasındaki azalmadan, kısmen de periferde yer alan mezenterik pleksusta NA başta olmak üzere nörotransmitter salgılanmasından ve/veya NOS inhibisyonu sonucu ortaya çıkan antimuskarinik etkiden kaynaklanmaktadır. Morfin yoksunluğu sırasında meydana gelen gastrointestinal aktivite artışında, Nukleus akumbens (NAcc) ile amigdalanın anterolateral çekirdeği ve bazoleteral çekirdeğinin rol oynadığı sanılmaktadır (28). Anatomik çalışmalarda NAcc'in kabuk bölgesinin, stria terminalisin bed nukleusu ile amigdalanın santral nukleusunun opioid bağımlılığında ortak bir rol oynadığı gösterilmiştir (30). Bu bölgeler opioid reseptörlerden oldukça zengindirler. NAcc'in diğer bir bölgesi olan çekirdeğin ise

opioid bağımlılığında daha çok tetikleyici role sahip olduğu düşünülmektedir (31). Aslında benzer bulgular I reseptörlerinin endojen ligandı olan agmatin ile de elde edilmiştir. Agmatinin LC nöronal aktivitesini arttırdığı, bunun da NOS aktivitesine bağlı bir mekanizma ile olduğu gösterilmiştir (32). Agmatinin fentanil bağımlılığını baskılayabileceğinin gösterilmesi nedeniyle kronik opioid uygulamasına bağlı nöroadaptif mekanizmaları düzenleyebileceği düşünülmüştür (33). İn vivo bağımlılık modelinde nalokson ile oluşturulan yoksunluk sendromunun tüm semptomlarını baskılayabildiği gösterilmiştir (34). Gerek morfin bağımlılığında gerekse morfin yoksunluk sendromu sırasında agmatin ve agmatinin sentezinden sorumlu enzim arjinin dekarboksilazın beyin ve periferik organlardaki miktarı/aktivitesi değerlendirilmiştir (35). Eğer agmatin tedavisi in vivo modelde morfin uygulaması ile eş zamanlı olarak başlar ve bağımlılık süresince uygulamaya devam edilirse agmatinin bağımlılık gelişimini engellediği ve bunu bağımlılık sırasında gelişen cAMP artışını engelleyerek yaptığı gösterilmiştir (36). Agmatinin morfin yoksunluk sendromu sırasında ortaya çıkan tüm semptomları baskıladığının gösterilmesinin ardından sorumlu mekanizmanın nöronal NOS (nNOS) üzerinden yürüyebileceği düşüncesiyle nNOS geni silinmiş fareler kullanılarak daha önce sözü edilen in vivo bağımlılık çalışması tekrarlanmıştır. Buna göre nNOS olmadığı zaman agmatin sadece periferik yoksunluk semptomlarını baskılamış, santral semptomları ise değiştirmemiştir. Bu nedenle en azından agmatinin morfin bağımlılığındaki santral rolünü nNOS üzerinden modüle edildiği düşünülmüştür (37). Morfin lokomotor duyarlılığı, striatumda ekstraselüler DA ve DA metabolitleri 3,4-dihidroksifenil asetik asid (DOPAC) ve homovanilik asid (HVA) miktarlarını artırırken agmatin morfine bağlı duyarlılık artışını ve dopamin artışını engellemiştir (38). İn vivo morfin bağımlılığı oluşturulmuş sıçanların NAcc'ine mikrodializ propu yerleştirilmiş ve toplanılan diyalizatlarda bağımlılık ve yoksunluk sırasında, NO'nun son metaboliti kabul edilen L-sitrulin düzeyleri ölçülmüştür. Morfin yoksunluk sendromu oluşturulduktan sonra ilk 20 dakika içinde L-sitrulin düzeyleri bazal değerlere oranla anlamlı miktarda artmış ve bu artış agmatin ile engellenbilmiştir. Bu sonuçlar NAcc'deki NO sentezinin morfin bağımlılığı ve yoksunluğunda önemli bir rolü olduğunu fakat NO dışında farklı mekanizmaların da rol oynayabileceğini düşündürmektedir (39). Agmatinin morfin bağımlılığı üzerindeki olası rolü in vitro sistemde de araştırılmıştır;

naloksonla elde edilen yoksunluk kasılmalarının doza bağlı olarak inhibe edildiği, bu etkinin kısmen I, kısmen de α_2 -adrenoseptörler aracılığı ile olduğu gösterilmiştir (40). Bu çalışma 2-BFI'nin I2 reseptörlerinin selektif agonisti ve BU224'nun I2 reseptörlerinin selektif antagonisti olduğu kabul edilerek planlanmıştır. Çalışmanın bulguları daha önceki bulgularla uyumludur. Gerek 2-BFI gerekse BU224 morfin yoksunluğunu anlamlı bir biçimde baskılamıştır ve I2 reseptörleri bağımlılık mekanizmasında önemli role sahip görünmektedir.

Son yıllarda adrenerjik sistemle opiaterjik sistemin arasında bir ilişki olduğunu gösteren çok sayıda yayın literatüre girmiştir. Opioidlerin hipokampusta, kortekste ve LC'da NAjik aktiviteyi inhibe ettiği ve NAjik turnoverı arttırdığı bilinmektedir (41). Bir α_2 -adrenoseptör ve I reseptör agonisti olan klonidinin opioid bağımlılığında yoksunluk belirtilerini azalttığı ve bu azalmanın α_2 -adrenoseptör antagonisti olan yohimbin ile baskılandığı gösterilmiştir (42). Klonidinin morfin yoksunluğu belirtilerini baskılamadaki etkisinin NO sentezinin inhibisyonuyla ortaya çıktığını da gösteren yeni fikirler ortaya konmuştur (43). Aslında klonidinin morfin yoksunluk belirtilerini inhibe ettiği uzun zamandır bilinmektedir. Bugün hala netlik kazanmamış olan uzun yıllar sadece α_2 -adrenoseptörler üzerinden etki yaptığı düşünülen klonidinin opioid bağımlılığındaki etkisinin ne kadarının I reseptörleri aracılığıyla meydana geldiğidir.

Gerek literatürden alınan bilgiler gerekse bu çalışmanın sonuçları I sisteminin belki kısmen reseptörleri aracılığıyla belki de farklı mekanizmaları kullanarak morfin bağımlılığı ve/veya yoksunluğunda önemli rolü olduğunu düşündürmektedir. Kullanılan maddelerin yeni ve az araştırılmış olması nedeniyle söylenebilecekler son derece sınırlıdır ve çoğu hipotez niteliğindedir. Ancak hangi yolla olursa olsun bugün için bilimsel veri anlamında kesin olan morfin bağımlılığında etkili olduklarıdır. Bu konunun mekanizmasına yönelik çalışmaların devam ettirilmesi hem son derece karmaşık olan bağımlılık mekanizmasını daha iyi anlamamızı sağlayacaktır hem de yeni tedavi yaklaşımlarının geliştirilmesine katkı sağlayacaktır düşüncesindeyiz.

Teşekkür

Bu çalışma Zehra Çetin'in "İmidazolin-2 Reseptörlerinin Morfin Bağımlılığındaki Rolünün Araştırılması" başlıklı yüksek lisans tezi kaynaklıdır.

KAYNAKLAR

- Bodnar RJ. (2008). Endogenous opiates and behaviour: Peptides. 2007; 29 (12): 2292-2375.
- Ozawa T, Nakagawa T, Shige K, Minami M, Satoh M. Changes in the expression of glial glutamate transporters in the rat brain accompanied with morphine dependence and naloxone-precipitated withdrawal. *Brain Res.* 2001; 905 (1-2): 254-258.
- Han MH, Bolanos CA, Green TA, Olson VG, Neve RL, Liu RJ, Aghajanian GK, Nestler EJ. Role of cAMP response element-binding protein in the rat locus coeruleus: Regulation of neuronal activity and opiate withdrawal behaviours. *J Neurosci.* 2006; 26 (17): 4624-4629.
- Ruiz-Durantez E, Torrecilla M, Pineda J, Ugedo L. Attenuation of acute and chronic effects of morphine by the imidazoline receptor ligand 2-(2-benzofuranyl)-2-imidazoline in rat locus coeruleus neurons. *Br J Pharmacol.* 2003; 138 (3): 494-500.
- Bousquet P. Imidazoline Receptors: From Basic Concepts to Recent Developments. *J Cardiovasc Pharmacol.* 1995; 26 (2): 1-6.
- Bousquet P. Imidazoline receptors. *Neurochem. Int.* 1997; 30 (1): 3-7.
- Bour S, Iglesias-Osma MC, Marti L, Duro P, Garcia-Barrado MJ, Valet P, Moratinos J, Carpeno C. (2006). The imidazoline I2-site ligands BU 224 ve 2-BFI inhibit MAO-A and MAO-B activities, hydrogen peroxide production, and lipolysis in rodent and human adipocytes. *Eur J Pharmacol.* 1997; 552 (1-3): 20-30.
- Head GA, Mayorov DN. Imidazoline receptors, novel agents and therapeutic potential. *Cardiovas Hematol Agents Med Chem.* 2006; 4 (1): 17-32.
- Hudson AL, Gough R, Tyacke R, Lione L, Lalies M, Lewis J, Husbands S, Knight P, Murray F, Hutson P, Nutt DJ. Novel selective compounds for the investigation of imidazoline receptors. *Ann N Y Acad Sci.* 1999; 881: 81-91.
- Robinson ES, Tyacke RJ, Nutt DJ, Hudson AL. Distribution of [3H] BU224, a selective imidazoline I2 binding site ligand, in rat brain. *Eur J Pharmacol.* 2002; 450 (1): 55-60.
- Hudson AL, Tyacke RJ, Lalies MD, Davies N, Finn DP, Marti O, Robinson E, Husbands S, Minchin MCW, Kimura A, Nutt DJ. Novel ligands for the investigation of imidazoline receptors and their binding proteins. *Ann N Y Acad Sci.* 2003; 1009: 302-308.
- Garcia-Sevilla JA, Escriba PV, Guimon J. Imidazoline receptors and human brain disorders. *Ann N Y Acad Sci.* 1999; 881: 392-409.
- Reynolds GP, Boulton RM, Pearson SJ, Hudson AL, Nutt DJ. Imidazoline binding sites in Huntington's and Parkinson's disease putamen. *Eur J Pharmacol.* 1996; 301 (1-3): 19-21.
- Ruiz J, Martin I, Callado LF, Meana JJ, Barturen F, Garcia-Sevilla JA. Non-adrenoreceptor [3H]idazoxan binding sites (I2-imidazoline sites) are increased in postmortem brain from patients with Alzheimer's disease. *Neurosci Lett.* 1993; 160 (1): 109-112.
- Sastre M, Ventayol P, Garcia-Sevilla JA. Decreased density of I2-imidazoline receptors in the postmortem brains of heroin addicts. *Neuroreport.* 1996; 7 (2): 509-512.
- Lione LA, Nutt DJ, Hudson AL. Characterisation and localisation of [3H]2-(2-benzofuranyl)-2-imidazoline binding in rat brain: A selective ligand for imidazoline I2 receptors. *Eur J Pharmacol.* 1998; 353 (1): 123-35.
- Ugedo L, Pineda J, Ruiz-Ortega JA, Martin-Ruiz R. Stimulation of locus coeruleus neurons by non-I1/I2-type imidazoline receptors: an in vivo and in vitro electrophysiological study. *Br J Pharmacol.* 1998; 125 (8): 1685-1694.
- Boronat MA, Olmos G, Garcia-Sevilla JA. Attenuation of tolerance to opioid-induced antinociception and protection against morphine-induced decrease of neurofilament proteins by idazoxan and other I2-imidazoline ligands. *Br J Pharmacol.* 1998; 125 (1): 175-185.
- Way EL, Loh HH, Shen F. Simultaneous quantitative assesment of morphine tolerance and physical dependence. *J Pharmacol Exp Ther.* 1969; 167 (1): 1-8.
- Sanchez-Blazquez P, Boronat MA, Olmos G, Garcia-Sevilla JA, Garzon J. Activation of I2-imidazoline receptors enhances supraspinal analgesia in mice: A model to detect agonist antagonist activities. *Br J Pharmacol.* 2000; 130 (1): 146-152.
- Finn DP, Lalies MD, Harbuz MS, Jessop DS, Hudson AL, Nutt DJ. Imidazoline 2 (I2) binding site- and α_2 -adrenoreceptor-mediated modulation of central noradrenergic and HPA axis function in control rats and chronically stressed rats with adjuvant-induced arthritis. *Neuropharmacol.* 2002; 42 (7): 958-965.
- Finn DP, Marti O, Harbuz MS, Valles A, Belda X, Marquez C, Jessop DS, Lalies MD, Armario A, Nutt DJ, Hudson AL. Behavioral, neuroendocrine and neurochemical effects of the imidazoline I2 receptor selective ligand BU224 in naive rats and rats exposed to the stress of the forced swim test. *Psychopharmacol.* 2003; 167 (2): 195-202.
- Finn DP, Hudson AL, Kinoshita H, Coventry TL, Jessop DS, Nutt DJ, Harbuz MS. Imidazoline 2 (I2) receptor and α_2 -adrenoreceptor-mediated modulation of hypothalamic-pituitary-adrenal axis activity in control and acute restraint stressed rats. *J Psychopharmacol.* 2004; 18 (1): 47-53.
- Diaz A, Mayet S, Dickenson AH. BU-224 produces spinal antinociception as an agonist at imidazoline I2 receptors. *Eur J Pharmacol.* 1997; 333 (1): 9-15.
- Smith KL, Roche M, Jessop DS, Finn DP. The effects of synthetic and endogenous imidazoline binding site ligands on neuronal activity in discrete brain regions of naive and restraint-stressed rats. *Eur Neuropsychopharmacol.* 2009; 19 (5): 371-380.
- Adams ML, Kalicki JM, Meyer ER, Cicero TJ. Inhibition of the morphine withdrawal syndrome by a nitric oxide synthase inhibitor, NG-nitro-L-arginine methyl ester. *Life Sci.* 1993; 52 (22): 245-249.
- Cappendijk SL, De Vries R, Dzoljic MR. Inhibitory effect of nitric oxide (NO) synthase inhibitors on naloxone-precipitated withdrawal syndrome in morphine-dependent mice. *Neurosci Lett.* 1993; 162 (1-2): 97-100.
- Kimes AS, Vaupel DB, London ED. Attenuation of some signs of opioid withdrawal by inhibitors of nitric oxidesynthase. *Psychopharmacol.* 1993; 112(4): 521-524.
- Vaupel DB, Kimes AS, London ED. Nitric oxide synthase inhibitors. Preclinical studies of potential use for treatment of opioid withdrawal. *Neuropsychopharmacology.* 1995; 13(4):315-22.
- Walker JR, Ahmed SH, Gracy KN, Koob GF. Microinjections of an opiate receptor antagonist into the bed nucleus of the stria terminalis suppress heroin self-administration in dependent rats. *Brain Res.* 2000; 854 (1-2): 85-92.

31. Hedou G, Feldon J, Heidbreder CA. Effects of cocaine on dopamine in subregions of the rat prefrontal cortex and their efferents to subterritories of the nucleus accumbens. *Eur J Pharmacol.* 1999; 372 (2):143-155.
32. Ruiz-Durantez E, Ruiz-Ortega JA, Pineda J, Ugedo L. Effect of agmatine on locus coeruleus neuron activity: possible involvement of nitric oxide. *Br J Pharmacol.* 2002; 135 (5): 1152-8.
33. Morgan AD, Campbell UC, Fons RD, Carroll ME. Effects of agmatine on the escalation of intravenous cocaine and fentanyl self-administration in rats. *Pharmacol Biochem Behav.* 2002; 72 (4): 873-880.
34. Arıcıoğlu-Kartal F, Uzbay IT. Inhibitory effect of agmatine on naloxone-precipitated abstinence syndrome. *Life Sci.* 1997; 61(18): 1775-1881.
35. Arıcıoğlu-Kartal F, Regunathan S. Effect of chronic morphine treatment on the biosynthesis of agmatine in rat brain and other tissues. *Life Sci.* 2002; 71(14): 1695-1701.
36. Arıcıoğlu F, Means A, Regunathan S. Effect of agmatine on the development of morphine dependence in rats: potential role of cAMP system. *Eur J Pharmacol.* 2004; 504 (3): 191-197.
37. Arıcıoğlu F, Paul IA, Regunathan S. Agmatine reduces only peripheral-related behavioral signs, not the central signs, of morphine withdrawal in nNOS deficient transgenic mice. *Neurosci. Lett.* 2004; 9; 354 (2):153-157.
38. Wei XL, Su RB, Wu N, Lu XQ, Zheng JQ, Li J. Agmatine inhibits morphine-induced locomotion sensitization and morphine-induced changes in striatal dopamine and metabolites in rats. *Eur Neuropsychopharmacol.* 2007; 17 (12): 790-799.
39. Yananlı H, Gören MZ, Berkman K, Arıcıoğlu F. Effect of agmatine on brain L- citrulline production during morphine withdrawal in rats: A microdialysis study in nucleus accumbens. *Brain Res.* 2007; 1132 (1): 51-58.
40. Arıcıoğlu-Kartal F, Erçil E, Dülger G. Agmatine inhibits naloxone-induced contractions in morphine-dependent guinea pig ileum. *Ann N Y Acad Sci.* 2003; 1009: 147-151.
41. Atcheson R, Rowbotham DJ, Lambert DG. Fentanyl inhibits the release of noradrenaline from SH-SY5Y human neuroblastoma cells. *Br J Anaesth.* 1994; 72 (1): 98-103.
42. Sahraei H, Ghazzaghi H, Zarrindast M, Ghoshooni H. The role of alpha-adrenoceptor mechanism(s) in morphine-induced conditioned place preference in female mice. *Pharmacol Biochem Behav.* 2004; 78 (1):135-41.
43. Kosten TA. Clonidine attenuates conditioned aversion produced by naloxene-precipitated opiate withdrawal. *Eur J Pharmacol.* 1994; 254 (1-2): 59-63.