



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI

**OPİORFİNİN ANALJEZİK ETKİNLİĞİ VE
NORADRENERJİK MEKANİZMALARLA
OLASI ETKİLEŞİMİNİN ZİMOSAN İLE
TETİKLENMİŞ KRONİK İNFLAMATUAR
AĞRI MODELİNDE İNCELENMESİ**

Ayşegül KURT

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Prof. Dr. Ahmet AYAR

TRABZON- 2014

ONAY

Bu tez Yüksek Lisans Tezi Standartlarına Uygun Bulunmuştur

Prof. Dr. Ahmet AYAR

Fizyoloji Anabilim Dalı Başkanı

.....

(İmza)

Karadeniz Teknik Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Fizyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans öğrencisi Ayşegül KURT'un hazırladığı "Opiorfinin Analjezik Etkinliği ve Noradrenerjik Mekanizmalarla Olası Etkileşiminin Zimosan ile Tetiklenmiş Kronik İnflamatuvar Ağrı Modelinde İncelenmesi" başlıklı tez KTÜ Lisansüstü Eğitim - Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca kapsam ve bilimsel kalite yönünden değerlendirilerek Yüksek Lisans/Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Danışman Prof.Dr. Ahmet AYAR _____

Yüksek Lisans Sınavı Jüri Üyeleri

Prof.Dr. Ahmet AYAR _____

Prof. Dr. Sibel VELİOĞLU _____

Doç.Dr. Mehmet YILDIRIM _____

Tarih:01/2014

Bu tez KTÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun01/2014 tarih ve ... sayılı kararıyla onaylanmıştır.

.....

Prof. Dr. Ahmet KALKAN

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

BEYAN

Bu tez çalışmasının KTÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü tez yazım kılavuzu standartlarına uygun olarak yazıldığını, tezin akademik ve etik kurallara bağlı kalınarak gerçekleştirilmiş özgün bir bilimsel araştırma eserim olduğunu, tezde yer alan ve bu tez çalışması ile elde edilmeyen tüm bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve kaynakların kaynak listesinde yer aldığını, tezin çalışılması ve yazımı aşamalarda patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

24.12.13

Ayşegül KURT

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca bilimsel bakış açısıyla daima örnek olan, tecrübe ve yardımlarını hiçbir zaman esirgemeyen, değerli hocam ve danışmanım Prof. Dr. Ahmet AYAR'a, eğitim sürecimde yardımlarını esirgemeyen Karadeniz Teknik Üniversitesi Fizyoloji Anabilim Dalı'nın tüm öğretim üyelerine, çalışma arkadaşlarıma ve ayrıca emeği geçmiş tüm teknik ve idari personele yardım ve katkılarından dolayı teşekkür ederim.

Ayrıca, Yüksek Lisans çalışmalarımı sürdürebilmemde büyük bir özveri ile beni destekleyen aileme teşekkürü bir borç bilirim.

Ayşegül KURT

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo	Sayfa
Tablo 1. İnflamatuvar Ağrı Modellerinin Karşılaştırılması	19
Tablo 2. Deney Grupları ve Protokollerin Özeti	37

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil	Sayfa
Şekil 1. Dorsal boynuzdaki inhibitör ve eksitatör sinapslar ve transmitterleri	25
Şekil 2. Nosiseptif inisi sistemin şematik diyagramı	30
Şekil 3. Sıçan arka ayağında zimosan ile tetiklenmiş inflamasyon ve ödem tablosu	38
Şekil 4. Termal plantar analjezimetre sistemi	39
Şekil 5. Kontrol ve intraplantar zimosan uygulamasına bağlı ağrı duyarlılığı gelişimi ve çözücülerin DMSO, SF) ağrı duyarlılığına etkisi	43
Şekil 6. Zimosan ile indüklenmiş inflamatuvar ağrıda tek doz sistemik opiorfin (0.1 ve 0.3 mg/kg) uygulamasının ağrı duyarlılığı üzerine etkisi	44
Şekil 7. Zimosan ile indüklenmiş inflamatuvar ağrıda tek doz intraplantar opiorfin (0.3 mg/kg) uygulamasının ve serum fizyolojinin ağrı duyarlılığı üzerine etkisi	45
Şekil 8. Zimosan ile indüklenmiş inflamatuvar ağrıda NA (1 mg/kg) ve NA (1 mg/kg) + opiorfin (0.3 mg/kg, i.p) kombinasyonu uygulamalarının ağrı duyarlılığı üzerine etkisi	46
Şekil 9. Zimosan ile indüklenmiş inflamatuvar ağrıda prazosin (1mg/kg) ve prazosin (1 mg/kg) + opiorfin (0.3 mg/kg) i.p kombine uygulamalarının etkisi	48
Şekil 10. Zimosan ile indüklenmiş inflamatuvar ağrıda prazosin (1 mg/kg) + opiorfin (0.3 mg/kg) ile NA (1 mg/kg) + opiorfin (0.3 mg/kg) uygulamalarının etkisi	49
Şekil 11. Zimosan ile indüklenmiş inflamatuvar ağrıda prazosin + opiorfin (0.3 mg/kg) kombinasyonu ile NA + opiorfin (0.3 mg/kg) kombinasyonu ve çözücü (SF ve DMSO i.p) uygulamalarının etkilerinin kombine değerlendirilmesi	50

KISALTMA SİMGE VE FORMÜLLER DİZİNİ

Kısaltmalar

5-HT	5-hidroksitriptamin
TFA	Tam Freund adjuvanı
TRPV1	Transient reseptör potansiyel vanilloid tip 1
MSS	Merkezi sinir sistemi
WDR	Geniş-Dinamik-Alan Nöronları
IASP	Uluslararası Ağrı Araştırmaları Teşkilatı
SG	Substantia gelatinosa
NS	Nosiseptif spesifik
Glu	L-glutamat
Asp	L-aspartat
CGRP	Kalsitonin-Geniyle İlişkili Peptid
NO	Nitrik Oksit
NE	Norepinefrin
DA	Dopamin
ACh	Asetilkolin
GABA	Gamma-aminobütirik asit
VLP	Ventral posterolateral
RF	Retiküler formasyon
PB	Parabrakial bölge

PSDC	Postsinaptik dorsal kolon
PAG	Periakvaduktal gri cevher
SF	Serum fizyolojik
DMSO	Dimetil sülfoksit

Simgeler

α	Alfa
δ	Delta
μ	Mu
κ	Kappa

İÇİNDEKİLER

ONAY	ii
BEYAN	iii
TEŞEKKÜR	iv
TABLolar DİZİNİ	v
ŞEKİLLER DİZİNİ	vi
KISALTMA SİMGE VE FORMÜLLER DİZİNİ.....	vii
ÖZET	1
SUMMARY	3
3. GİRİŞ ve AMAÇ	5
4. GENEL BİLGİLER	9
4.1. Ağrı.....	9
4.2. Ağrının Tarihçesi	9
4.3. Ağrının Algılanması	11
4.4. Ağrı Sınıflandırması	12
4.4.1. Ağrının Başlama Süresine Göre Sınıflandırılması.....	12
4.4.2. Ağrının Mekanizmalara Göre Sınıflandırılması	13
4.4.3. Ağrının Kaynaklandığı Bölgeye göre Sınıflandırılması	15
4.5. İnflamatuar Ağrı.....	15
4.5.1. İnflamasyon.....	15
4.5.2. İnflamatuar Ağrı Modelleri	16
TFA: Tam Freund's adjuvanı.....	19
4.6. Ağrının Nöroanatomi ve Nörofizyolojisi	20
4.6.1. Ağrı İletimi ile İlgili Nöronlar.....	20
4.6.2. Ağrıda Rol Alan Nörotransmitterler	21

4.6.3. Nosisepsiyon ve Primer Afferent Lifler	24
4.6.4. Spinal Kord Dorsal Boynuzu	25
4.6.5. Nosisseptif Çıkıcı Yolaklar.....	26
4.7. Antinosiseptif İnici Sistemler.....	28
4.8. Noradrenerjik Ağrı Modülasyonu	30
4.9. Noradrenerjik Ağrı İnhibitör Geribildirim Döngüsü	31
4.10. Alfa-2 Adrenerjik Agonistlerin Analjezik Etkilerinin Mekanizması	32
4.11. Alfa-2 Adrenerjik ve Opioiderjik Sistemler Arasındaki Etkileşim	32
4.12. Endojen Enkefalin Opioid Sistem	33
4.13. Opiorfin	35
5. GEREÇ ve YÖNTEM.....	36
5.1. Deney Hayvanlarının Seçimi	36
5.2. Deney Düzeni.....	36
5.3. Kullanılan Ajanlar ve Uygulama Şekli.....	37
5.3.1. Zimosan	38
5.4. Ağrı Eşiğinin In Vivo Plantar Analjezimetre Testinde Belirlenmesi	39
5.5. Veri Analizi ve İstatiksel Değerlendirme	41
6. BULGULAR	42
6.1. Zimosan Enjeksiyonuna Bağlı İnflamasyon ve Hiperaljezi Gelişimi.....	42
6.2. Kontrol Grubuna Çözücü Uygulamaları ve Ağrı Latens Değerleri Üzerine Etkileri	43
6.3. Zimosan ile İndüklenen Ağrı Latens Değerleri Üzerine Opiorfinin Etkileri	44
6.4. Zimosan ile İndüklenen Ağrı Latens Değerleri Üzerine Noradrenalin ve Opiorfin + Noradrenalin Kombinasyonunun Etkileri.....	47
6.5. Zimosan ile İndüklenen ($\alpha 1$ antagonisti) Prazosin Uygulanan Grubun Opiorfin + Prazosin Kombinasyonu Uygulamalarının Ağrı Latens Değerleri Üzerine Etkileri	48
6.6. Zimosan ile İndüklenen Prazosin+Opiorfin Kombinasyonu ile NA+ Opiorfin Kombinasyonu Uygulamalarının Ağrı Latens Değerleri Üzerine Etkileri	49
7. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	52

8. KAYNAKLAR	58
9. ETİK KURUL ONAYI	66
10. ÖZGEÇMİŞ	67

ÖZET

Opiorfinin Analjezik Etkinliği ve Noradrenerjik Mekanizmalarla Olası Etkileşiminin Zimosan ile Tetiklenmiş Kronik İnflamatuar Ağrı Modelinde İncelenmesi

Kronik inflammatuar ağrı; doku hasarı ile oluşan inflamasyon kaynaklı inflammatuar mediyatörlerin normalde ağrıyı iletmeyen nosiseptif-spesifik nöronları kronik olarak aktif hale getirmesi sonucunda hassasiyetin artmasına neden olan nosiseptif bir süreçtir. Hala yeterli etkinlikte tedavisi olmayan osteoartrit ve sırt ağrısı dahil çok sayıda ağrılı durumun ortak bir özelliği kronik inflammatuar ağrıdır. Endojen enkefalinergik sistemin vücuttaki antinoseptif cevaba katkıda bulunduğuna yönelik kanıtlar mevcuttur. Bununla birlikte, endojen opioid peptidler endojen enzimler tarafından hızla yıkımlandığından dolayı, bu peptitleri yıkımlayan enzim (enkefalinaz) inhibitörleri daha iyi yan etki ve bağımlılık profiline sahip potansiyel analjezik olarak görülmektedir. Son yıllarda keşfedilen opiorfin ve spinorfin; endojen analjezik aktiviteye sahip enkefalinaz inhibitörleridir. Nosiseptif bilgi iletiminin endojen ağrı inhibe edici sistemler tarafından modülasyonunda noradrenalinin de rol aldığı da bilinmektedir.

Bu tez çalışmasının amacı, opiorfinin; inflammatuar ağrı üzerine olası analjezik etkisi ve bu etkinin noradrenerjik mekanizmalar ile olası etkileşimini belirlemektir. Opiorfinin analjezik etkisi, sıçanlarda zimosan ile indüklenmiş kronik inflammatuar ağrı modelinde *in vivo* davranışsal nosiseptif "plantar test" kullanılarak değerlendirildi. Plantar test; saydam akrilik kutulara sıçanlar (eriskin erkek Sprague-Dawley cinsi) tek tek yerleştirilip, mobil infrared ısı kaynağı hedeflenen arka pençenin plantar yüzeyinin altına getirilip, plantar yüzeye odaklanılarak termal ışınsal ısı uygulanması ve sıçanın arka pençe geri çekme latensi (nosiseptif eşik) ölçümü ile belirlendi. Kontrol nosiseptif latens değerleri elde edildikten sonra; kronik inflammatuar ağrı, zimosanın (200 mikrolitre volümde 6 mg) intraplantar enjeksiyonu ile indüklenmiş ve ısı ile uyarılan nosiseptif testler tekrarlanmıştır. Ağrı eşik değerleri ölçüldü ve gruplar arasındaki fark olup olmadığını belirlemek için ilk olarak ANOVA testi kullanıldı. Daha sonra bu farkın hangi gruplar arasında olduğunu belirlemek için post hoc Dunnett's testi kullanıldı.

Sistemik uygulanan opiorfinin inflamatuvar ağrısı doza bağımlı inhibe ettiği, bu etkinliğin lokal uygulamada (intraplantar) daha belirgin olduğu tespit edildi. Noradrenalin ile kombinasyon kısmi sinerji yansıtırken, bu etki alfa adrenerjik blokaj ile geri çevrilebilir nitelikteydi.

Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar; osteoartrit ve sırt ağrısını kapsayan inflamatuvar ağrılı durumlar ile ilişkili kronik inflamatuvar ağrının kontrolünde; opiorfin gibi enkefalinaz inhibitörlerinin kullanımını ve bunların noradrenerjik antinoseptif mekanizmalar ile kombinasyonunu içeren terapötik stratejilerin geliştirilmesi için seçenek olabileceğini düşündürmektedir.

Anahtar Kelimeler: İnflamatuvar ağrı, noradrenerjik mekanizma, enkefalinergik sistem, opiorfin, plantar test

SUMMARY

Investigation of Possible Interactions of Analgesic Efficacy of Opiorphin and Noradrenergic Mechanisms in Zymosan-Induced Chronic Inflammatory Pain Model

Chronic inflammatory pain, a nociceptive process associated with tissue damage due to inflammation mediated by increased sensitivity of nociceptive-specific neurons which normally do not transmit pain, become activated chronically produced by the action of inflammatory mediators. Chronic inflammatory pain is a feature of a large number of painful conditions including osteoarthritis and back pain for which no satisfactory treatment has been available to date. Several lines of evidence indicate that endogenous enkephalinergic system is involved in antinociceptive response in the body. However endogenous opioid peptides are rapidly broken-down by endogenous enzymes, and therefore enkephalin-degradation enzyme (enkephalinase) inhibitors are considered as potential analgesics with possibility of better side effect and addictive profiles. Opiorphin and spinorphin are recently discovered enkephalinase inhibitors with endogenous analgesic activity. It is also known that noradrenalin is involved in the intrinsic modulation of nociceptive transmission among endogenous pain inhibitory modulation systems.

The aim of this thesis study is to assess the possible analgesic affects of opiorphin on inflammatory pain and possible interaction of this agents' analgesic effect with noradrenergic mechanisms. Analgesic effect of opiorphin was assessed in zymosan induced model for inflammatory chronic pain in rats, using the in vivo nociceptive behavioral "plantar test". The plantar test consists of placing individual rats (adult male Sprague-Dawley) in a transparent acrylic box, positioning a mobile infrared heat underneath the targeted hind paw's plantar surface and applying a focused thermal radiant heat to the plantar surface, and timing the delay for the first hind paw lift (nociceptive threshold). After obtaining control nociceptive latency values, chronic inflammatory pain was induced by intraplantar injection of zymosan (6 mg in 200 micro liter volumes) and heat stimulated nociceptive tests were repeated. Pain threshold values were determined and analyzed by a pair wise comparison between vehicle and each opiorphin treated group using a Dunnett's t-test on the ranked data.

Systemic administration of opiorphin provided a dose dependent inhibition of inflammatory pain; the effect being more prominent which after local (intraplantar) application. Combination with noradrenalin provided a limited synergic action, and this effect was reversible by alpha adrenergic blockage.

Results from this study implicates potential for development of therapeutical strategies involving use of enkephalinase inhibitors like opiorphin and their possible combination with noradrenergic antinociceptive mechanisms for the management of persistent pain associated with inflammatory painful conditions which includes osteoarthritis and back pain.

Key Words: Inflammatory pain, noradrenergic mechanisms, enkephalinergic system, opiorphin, plantar test

3. GİRİŞ ve AMAÇ

Uluslararası Ağrı Çalışma Derneği (*International Association for the Study of Pain=IASP*) (1) taksonomi komitesi tarafından yapılan bir tanıma göre ağrı; "Var olan veya olası doku hasarına eşlik eden veya bu hasar ile tanımlanabilen, hoşla gitmeyen duysal ve emosyonel deneyim" ve "Ağrı bir korunma mekanizması" olarak tanımlanmaktadır. Bu tanımdan anlaşılacağı üzere, ağrı öznel bir kavramdır. Ağrı nörobiyolojisinde büyük ilerlemelere rağmen (henüz mekanizma tamamen anlayışlamamış olsa da) mevcut analjeziklerle hastaların önemli bir kısmında tam başarı sağlanamamaktadır. Beklenti, anksiyete ve geçmiş ağrı deneyimleri ağrı algılamasını önemli derecede etkilemektedir. Nöronal olmayan hücre tiplerinden immün sistem hücreleri salgıları ile ağrı algısını değiştirmektedir. Ağrı kişiden kişiye büyük farklılıklar gösterir. Bunun sebebi de birçok faktörün (cinsiyet, din, dil, ırk, sosyokültürel çevre...) ağrı eşiğini, dolayısıyla da ağrılı uyarana tepkiyi belirlemesidir (2). Ağrıdan muzdarip olma süresi, ağrının sebebi, ağrının anatomik yerleşimi ve ağrının şiddetine göre ağrı sınıflandırılmaktadır.

İnsanlık tarihi boyunca en önemli sağlık sorunlarından biri olan ağrı günümüzde de hem gelişmiş, hem de gelişmekte olan toplumlarda sağlık yardımı arama sebepleri arasında ilk sıralarda yer almaktadır. Dünya çapında sağlık giderlerinin önemli bir kısmı ağrı kesici ilaçlara harcanmaktadır. Gerek kullanılan analjeziklerin yan etkisi gerek hastanın zamanla analjeziğe karşı geliştirdiği duyarsızlık araştırmacıları endojen olarak var olan ve organizmaya en az hasar verme potansiyeli olan yeni ağrı kesicilerin keşfine yönlendirmektedir.

Geçmişte sadece çeşitli hastalıkların bir bulgusu olarak kabul edilen ağrı (özellikle kronik ağrı), günümüzde artık başlı başına bir hastalık, bir sendrom olarak kabul edilmektedir. Kronik ağrı, aylar hatta yıllar boyunca süren ve uzun süreli tedavi gerektiren, duysal, duygusal, davranışsal ve bilişsel bileşenleri içeren öznel ve çok boyutlu ağrı olarak tanımlanmaktadır. Bu ağrı durumu tüm klinisyenlerin çok kez karşılaştığı ciddi bir sağlık sorunudur. Sağlık harcamalarında önemli derecedeki artışın yanı sıra hastanın işlevselliğinin bozulmasına, işgücünün düşmesine yol açmaktadır (3, 4).

Kronik inflamatuvar ağrı, inflamasyon oluşturan ajanlarla tetiklenen, periferik doku hasarına neden olan ve bunun sonucunda oluşan; spontan ağrı, nosiseptörlerin ağrılı uyaranlara (hiperaljezi) ve ağrılı olmayan uyaranlara (allodini) aşırı duyarlılığı gibi inflamatuvar yanıt ve kimyasal medyatörlerin aracılık ettiği ağrı olarak tanımlanmaktadır (5). Kronik ağrı, etkin tedavi edilmediğinde ağırlıklı olarak nöropatik yapıdadır, periferik ve santral nosiseptif hassasiyete yol açabilmektedir. Bununla birlikte, kronik ağrı; arterit, bel, baş ağrısı ve skleroz gibi ağrı durumlarının ortak bir özelliğidir. Şiddetli ağrıyı baskılayan opioid reseptör agonistleri; morfin ve türleri gibi ilaçların kullanıldığı uzun süreli tedavi sonrası tolerans ve bağımlılığın gelişmesi klinik kullanımı sınırlamaktadır (6). Fizyolojik opioid mekanizmaların ağırlıklı olarak bilinen parçası endojen nosiseptif modülasyon sistemidir. Bu sistem, ağrı iletim sisteminin aktivitesini düzenleyici olarak rol oynamaktadır.

Enkefalinler, en önemli endojen opioid peptidlerdir; ağrı algısının dinamik kontrolünde önemli bir rol oynamaktadırlar (6). Ağrılı uyaran ile nosiseptörlerden başlayan impulsların medulla spinalisten beyin sapı ve kortekse doğru iletilirken bu bölgelerden özellikle mezensefalon bölgesinde analjezik sistemi harekete geçirmektedir. Mezensefalondaki periakvaduktal gri cevher ve periventriküler bölgedeki nöronları uyarırlar; bölgedeki nöronlara enkefalinerjik nöronlar denir. Bu enkefalinerjik nöronlar ponsun üst kısmıyla medulla oblangatanın alt kısmında bulunan nucleus reticularis paragigantocellularis ve raphe magnus çekirdeklerinde sonlanırlar. Enkefalinerjik nöronların uyarılması sonucu, sonlandıkları bu sinaptik aralığa enkefalin salgırlar. Enkefalinin, pons ve bulbusta bulunan nucleus reticularis paragigantocellularis ve raphe magnus çekirdeklerindeki nöronları uyarmasıyla, burada bulunan serotoninerjik nöronlar aktive olur. Bu nöronlar, medulla spinalis arka boynuzunda nosiseptörlerin uyarılmasıyla aktive olan arka kök gangliyon hücrelerinin aksonlarında sonlanarak inhibe edici etki gösterirler (7).

Akut veya kronik inflamatuvar ağrıya çözüm olarak genetik, biyokimyasal, moleküler ve davranışsal farmakolojik yöntemler kullanılarak yapılan birçok düzeyli çalışma sonucunda memelilerde fizyolojik; enkefalini inaktive eden Zn-ektopetidaz inhibitörü, NEP ve AP-N ikili inhibitör varlığını keşfedilmiştir. Bu inhibitörlerden birisi sıçandan elde edilen silorfin diğeri ise insandan elde edilen opiorfindir (6).

Pasteur Enstitüsü bilim adamlarının (Nancy-Braboıs Teknopol'den ETAP takımı işbirliği ile) (8) in vivo çalışmalarında; aynı doz için, opiorfin hem termal ve mekanik ağrıda, morfin ile karşılaştırılabilir analjezik etkiye sahip olduğu görülmektedir. Morfine kıyasla ciddi yan etkiye sahip olmadığı ayrıca tolerans ve bağımlılık gelişimi görülmediği rapor edilmektedir.

Kronik ağrı, depresif bozuklarla ilişkilendirilmektedir. Opiorfinin diğer bir özelliği de, aynı dozda verilen morfinden farklı olarak aynı anda hem ağrı hem depresyon karşı tedavi edici etkinliğe sahip olmasıdır. Bilim adamlarının öncülüğünde yapılan fonksiyonel test sonuçları opiorfinin; endojen enkefalin-bağımlı sinyal yollarının aktivitesini uyarıcı özellikte olduğu ve bu özelliği ile de ağrı kesici ve antidepresan etkinliği göstermektedir (8).

Birçok alışma, periferde analjezik sistemin harekete geçmesiyle norepinefrin ağrıya karşı oluşturduğu cevabın alfa-2 adrenoreseptörlerin aktivasyonu nedeniyle olduğunu göstermiştir. Bu kavram geniş ölçüde davranışsal ve nörofizyolojik kanıt ile desteklenmiştir. Alfa-1 adrenoseptör norepinefrinin ağrıya karşı oluşan bu cevabına aracılık etmekte, periferik alfa-2-adrenoseptörleri ise ağrının baskılanmasında rol oynamaktadır.

Periferik alfa-2-adrenoseptrlerinin bir ağrı inhibe edici bir rolü vardır. Yapılan birçok davranış çalışmaları bu hipotezi desteklemektedir. Alfa-2 adrenoseptör agonistinin uygulanması, kontrol grubunda nosiseptif cevabı, inflamatuvar durumda aşırı duyarlılığı (hipersensitive) ve nöropatik durumu azaltmıştır. Ağrılı inflamatuvar durumu, spinal alfa-2-adrenaseptrlerinin sayısını artırabilmektedir. Bu değişikliğe, inflamatuvar durumda gelişmiş sistemik antinosiseptif etki ve alfa-2 adrenoseptör agonistlerinin uygulanması sebep olabilmektedir (9).

Deneyssel veriler; opioid analjeziklerin sağladığı antinosisepsiyonda, ayrı reseptörler üzerinden etki gösterilmelerine rağmen alfa adrenerjik agonistlerin de rol oynadığı kanıtlamıştır. Güçlü analjezik etkili opiyatların bu etkisine tolerans gelişimi ve solunum depresyonu gibi yan etkileri araştırmacıları yeni ilaçlara yneltmıştir. Bununla birlikte, Alfa-2 adrenerjik agonistlerin analjezik özellikleri uzun yıllardan bu yana bilinmektedir. Bu bileşiklerin opioid analjezisini potansiyalize ettikleri gösterilmiştir (10). Ağrı modellerinde analjezik etkiye sahip opiorfin; enkefalin gibi endojen opioidlerin daha uzun süre ortamda kalmasını sağlayarak analjezik etki göstermektedir

ayrıca tamamen insan tükürüğünden elde edilmesi ve fizyolojik yapıda olması kullanım güvenilirliğini arttırmaktadır. Çok sayıda araştırma sonucunda noradrenerjik ile enkefalinerjik mekanizmanın spinal düzeyde analjezik etkisinin olduğu görülmektedir. Bu iki mekanizma arasındaki olası etkileşim, ratlarda zimosan ile indüklenmiş kronik inflamatuvar ağrı modelinde davranışsal termal plantar analjezimetre test modeli ile henüz aydınlatılmamıştır.

İnflamasyon, proinflamatuvar mediyatörler ağrı algısı ve modülasyonunda rol oynamaktadır (11). Fiziksel hasarlar çoğunlukla inflamasyona neden olur ve hasarlanan hücrelerden K^+ , H^+ , bradikinin, histamin, 5-hidroksitriptamin (5-HT), nitrik oksit ve ATP gibi inflamatuvar mediyatörler salıverilir (12-14). İnflamatuvar ağrı modelleri literatürde tanımlanmış ve çeşitli ağrı kesici ajanların etkinliğini test etmek için kullanılmıştır. Bu amaçla tamamlanmış freund adjuvanı (CFA), karragenan, zimosan, mustard yağı, formalin, kapsaisin, lipopolisakkarid ve inflamatuvar sitokinler gibi çeşitli ajanlar kullanılarak deri, deri altı dokular, kas ve eklemlerde kronik inflamatuvar ağrı geliştirilmiştir (15, 16).

Bu çalışmanın amacı, opiorfinin kronik inflamatuvar ağrı üzerine olası analjezik etkisi ve bu etkinin noradrenerjik mekanizmalar ile olası etkileşimini incelemektir. Sıçanların arka ayak plantar yüzeyine zimosan enjekte edilerek ağrı oluşturuldu ve opiorfin ile noradrenerjik mekanizma modülatörlerinin ağrı davranışı üzerine olan etkileri *in vivo* nosiseptif davranışsal ağrı testi ("plantar test") kullanılarak değerlendirilmiştir.

Bu kapsamında intraperitonel uygulanan; noradrenalin, alfa-1antagonisti prazosin ve hem intraperitonel hem intraplantar opiorfin uygulanmasından sonra 15, 30, 60, 90, 120 ve 180. dakikalarda termal plantar analjezi metre kullanılarak ısı ile tetiklenen ağrılı uyarının lantesleri ölçülmüştür.

4. GENEL BİLGİLER

4.1. Ağrı

Ağrı, Latince “poena” (ceza, intikam, işkence) sözcüğünden gelen, yaşam için gerekli fizyolojik bir olgudur (17). Bu olgu; vücut savunma sistemimizin ciddi bir bileşeni olan ve yaşadığımız en rahatsız edici duyumlardan biridir. Organizmayı zararlı (noxious) ve tehlike oluşturan durumlardan koruyan ve bu durumları öğretici sinyal olarak önemli bir görev yapmaktadır (18).

Ağrı genellikle, doku hasarı üretebilen zararlı uyarılara algılayan nosiseptörlerin aktivasyonu ile başlatılır (18). Bu durum nosisepsiyon kavramının ağrı olgusunun bir parçası olduğunu göstermektedir. Nosisepsiyon kavramı tanımlanacak olursa; vücudun herhangi bir bölgesinde bir doku hasarı olduğu zaman, bu bölgede lokal olarak salınan mediyatörler ve aljezikler özelleşmiş sinir uçları olan nosiseptörleri uyarır ve santral sinir sisteminin belirli bölgelerinde nöral yapılarda değerlendirilip, zararlı uyarının algılanması ve buna karşı gereken fizyolojik, biyosimik ve psikolojik önlemlerin harekete geçirilmesine nosisepsiyon denir (19, 20).

Canlının ağrı algısına cevabında ağrı eşiği bir ölçüttür. Bu cevap oluşumu da ağrı değerlendirilmesi ve yönetiminde dikkate alınması gereken, bireyler arasında son derece değişken bir deneyim olan önemli bir faktör olduğu görülmektedir (18).

4.2. Ağrının Tarihçesi

20.yüzyılda kullandığımız “ağrı teorisi” aslında üç asır önce Descartes tarafından önerilmiştir. Descartes’in spesifite teorisi büyük etki yaratmıştır. Bu teori, 20. yüzyılın ilk yarısına kadar anatomi ve ağrı fizyolojisi deneylerini oldukça etkilemiştir. Sonuç olarak ağrı kavramının; spesifik ve doğrudan duysal bir projeksiyon sistemi olduğu belirtilmiştir. 1950’li yıllarda, çeşitli nöro cerrahi lezyonları, ciddi kronik ağrı tedavi girişimlerine yol açmıştır. Spesifite teorisi; yaralanma veya hasar ile özel ağrı reseptör ve liflerin aktive olması ve buna karşılık projekte olan ağrı impulslarının spinal ağrı yolağı üzerinden beyindeki ağrı merkezine doğru bir yol izlediğini ileri sürülmüştür. 1950’lerde, geçmiş tecrübeler, anksiyete, depresyon gibi psikolojik durumların ağrıyla

bağlantısı araştırılmamıştır. Bunun yerine, ağrı deneyimi periferik yaralanma veya patoloji ile orantılı olarak tutulmuştur (21).

Sırt ağrısı yaşayan hastalar, organsal olarak bir hastalık belirtisi göstermediğinden genellikle psikolojik rahatsızlık olarak değerlendirilmiş ve bu durumu yaşayan hastalar psikiyatriklere gönderilmiştir. Bu konsept basit ve sık sık şiddetli kronik ağrı çeken hastaları tedavide başarısız olmuştur. Klinik gözlemcilerin görüşlerine göre spesifite kuramının açıkça yanlış olduğu görülmüştür. Yeni bir teori bulmak için çeşitli girişimler başlamıştır. Spesifite teorisinin büyük rakibi “pattern teorisi” olarak isimlendirildi fakat birkaç farklı model teorileri vardı ve genellikle tam olarak belirlenmemiş yetersizlerdi. Ancak, bu model teorileri geliştirildi ve “kapı-kontrol teorisi” ortaya çıkarıldı (21). Livingston, dorsal boynuzlarda oluşan nöronal devrenin; iyileşme olduktan sonra uzun süre devam eden ve yansıyan ağrının oluşumunu burada olduğunu doğru kabul etmiştir (22). Noordenbos ise büyük çaplı liflerin, küçük çaplı lifleri inhibe ettiğini hatta dorsal boynuzlardaki substantia gelatinosa’nın; Livingston’ın tanımladığı diğer dinamik süreçlerin ve gelen sinir impulslarının toplamında önemli bir rol oynadığını öne sürmüştür (22, 23).

Ancak, bu teorilerin hiçbiri ağrı olgusunda beyinin pasif bir mesaj alıcısı olmasından başka açık bir rolü olduğunu doğrulayamamıştır. Bununla birlikte, birbirini izleyen teorik kavramlar bu alanı doğru yöne taşımıştır; omurilik içinde ve periferiye uzak olan özel bir ağrı yanıt olduğu ortaya çıkmıştır. Ağrının en az olduğu alandan yukarıya beyine doğru çıkmaktadır. Tüm bilimsel kuramlar gibi ağrı teorileri; tüm teorilerin birikimi ve hayal gücünün sağladığı atılım ile geliştirilmiştir. 1965’de Melzack ve Wall Ağrı Kapı Kontrol Teorisi’ni ileri sürmüştür (24).

Kapı kontrol teorisi; deriden gelen uyaranlar spinal kordda üç değişik sistemde iletilirler. Dorsal kolon, arka boynuz santral transmisyon hücreleri (T hücreleri) ve substantia gelatinosa hücreleridir. Substantia gelatinosadaki kapı hücreleri presinaptik inhibisyona yol açarlar. Melzack ve Wall ince liflerin kapı hücrelerini inhibe ettiğini, kapıyı açık tuttuğunu ileri sürmektedir.

Uyaran uzadığı zaman kalın lifler adapte olmakta ve ince lifler baskın çıkmaktadır. Böylelikle kapı açılmakta ve T hücrelerinden akım artmaktadır (25).

4.3. Ağrının Algılanması

Doku hasarı ve ağrı sürecinin oluştuğu bu karmaşık elektrokimyasal olay bütünü nosisepsiyon olarak tanımlanmaktadır. Asıl amaç organizmanın herhangi bir yerinde oluşan tahribat-hasar gibi durumları merkezi sinir sistemine (MSS) iletilmesi ve algılanıp bu duruma karşı gereken önlemlerin başlatılması durumudur.

Ağrı algılayan olarak bilinen ve çeşitli uyaranlarla cilt ve diğer dokularda bulunan ağrı algılayıcılara nosiseptör adı verilmektedir. Herhangi bir uyaran ile nosiseptörlerin uyarılması ile oluşan ağrı durumu çeşitli aşamalar ile MSS'ne iletilir ve algı oluşturur (26). Ağrı dört aşamada algılanmaktadır:

1.Transdüksiyon:

Stimulusun, sinirlerin sensoryal ucunda elektriksel aktiviteye dönüştüğü bir aşamadır (24). Nosiseptörler, zararsız uyaranlara normalde tepki vermezler. Sıcaklıkta bir uyarıdır fakat sıcaklık artışı zararlı bir uyaran olarak algılanır ve nosiseptörler duyarlı hale geçerler. Bu olay bir enerjinin başka bir enerjiye dönüşmesi olarak da tanımlanabilir (27).

2.Transmisyon:

Ağrı impulslarının sensoryal sinir sistemi boyunca yayıldığı aşamadır (24); ağrı bilgisinin nosiseptörler tarafından algılanıp daha üst merkezlere doğru iletilmesidir. Miyelinli A-delta lifleri ve miyelinsiz C lifleri bu iletimde etkin rol almaktadırlar. Miyelinli A-delta lifleri: sensitizasyona açık, hızlı iletimin olduğu hem termal hem de mekanik uyaranlarla uyarılabilen liflerdir. Miyelinsiz C lifleri ise yavaş iletimin olduğu her türlü uyarana karşı duyarlılık gösteren polimodal özellikteki liflerdir. Diğer sinir lifleri de çeşitli biçimlerde ağrılı uyaranın iletimine katılırlar (27).

3.Modülasyon:

Omurilik seviyesinde cereyan eden bu aşamanın asıl yeri medulla spinalis'in arka boynuzdaki gri cevherdir. Bu aşamada nöral etkenlerle nosiseptif transmisyonun

modifiye olduğu aşamadır (24). Ağrılı uyarının yayılarak spinal kord düzeyine gelir ve burada değışime uğrar bunun sonucunda da daha üst merkezlere iletilir (27).

4. Persepsiyon:

Canlının subjektif emosyonel deneyimleri sonucu gelişen psikolojisi ile etkileşimin olduğu ve uyarının algılandığı son aşamadır. Elektriksel impulslar (spinal veya belirli kranyal sinirlerdeki C lifleri veya A–delta liflerindeki) olarak spinal kök veya beyin köküne gider. Kompleks kimyasal etkileşimlerin oluşturduğu süregelen süreç ile sinaptik bileşkeyi geçerek sinyal nosiseptif spesifik yüksek SSS seviyelerine bir kez daha elektriksel olarak geçer veya WDR (Geniş-Dinamik-AlanNöronları) nöronlarına (ağrıya daha az spesifik) gider. Ken Casey'in ağrının iletimi ve algılanması konusunda dediği gibi nosisepsiyon dorsal boynuzda doğar, beyine ulaşınca kadar onu ağrı olarak isimlendiremeyiz (24, 28).

4.4. Ağrı Sınıflandırması

4.4.1. Ağrının Başlama Süresine Göre Sınıflandırılması

4.4.1.1. Akut ağrı

Nosiseptif nitelikte olan; yaralanma, infeksiyon veya cerrahi girişimlerden sonra oluşan lezyon sonucunda ani olarak başlayan, doku hasarı ile başlayıp, yara iyileşme sürecinde giderek azalan ağrı tablosudur (29).

4.4.1.2. Kronik ağrı

Birçok defa nosiseptif nitelikte olup, yararlı biyolojik amacı olmayan 3 ila 6 aydan daha uzun süren ve büyük bir kısmında saptanabilir bir lezyon göstermeyen ağrıdır. Herhangi bir müdahale yapılmaz ise bu ağrılar geçmemektedirler (30). Belirgin

olarak sempatik tonusun artışı ve nöroendokrin fonksiyonda artış gözlemlenmiştir. Akut ağrı ile karşılaştırıldığında otonomik yanıtlar fazla olmamakla beraber belirgindir (29).

4.4.2. Ağrının Mekanizmalara Göre Sınıflandırılması

4.4.2.1. Nöroseptif ağrı

Nöroseptör adı verilen ağrı algılayıcılarının, fizyolojik birtakım olayların ve süreçlerin sonucunda uyarılmasına bağlı olarak ortaya çıkar (31). Bu stimulusun ilk olarak ağrı iletiminde görev alan lifleri uyarması ve daha sonra bu lifler aracılığıyla omuriliğe taşınımı oradan da talamusa ve serebral kortekse iletilip burada ağrı olarak algılanan uyarılar nöroseptörlerce algılanır.

Nöroseptif ağrının somatik ve visseral olmak üzere iki alt ana gruba ayrılmaktadır; aralarındaki temel fark somatik ağrı duyuşsal, visseral ağrı ise sempatik lifler aracılığıyla taşınmasıdır. Nöroseptörlerin çeşitli somatik kökenli ağrılarda ağrı yoğun zonklama veya sızlama gibi acı vericidir, daha yaygın olan visseral ağrının değerlendirilmesi zordur (32).

4.4.2.2. Nöropatik ağrı

Gelen uyarıların sonucunda somatosensoriyal sistemin anormal uyarılmasını sağlayan uyarılar için kullanılır. Travma veya metabolik hastalık sonucunda oluşabilen santral veya periferik yaralanmaya sekonder yapısal veya fonksiyonel sinir sistemi adaptasyonlarının neden olduğu ağrıdır (33). Yanma, elektrik çarpması, hoş olmayan uyuşukluk hissi, karıncalanma gibi hislerin yaşandığı klinik tablodur (31).

Uluslararası Ağrı Araştırmalarının Teşkilatı'na göre “santral sinir sisteminde fonksiyon bozukluğu veya primer lezyonun başlattığı veya neden olduğu ağrı” olarak tanımlanmıştır (33). Fonksiyon bozukluğu ile başlayan bu sorun sinirin mekanik olarak duyarlı hale gelmesine neden olmakta ve bunun sonucunda ekotopik bir uyarı yaymaktadır. Büyük ve küçük lifler arasında çapraz bir iletişim oluşur. Ayrıca merkezi

işlevlerde bir hasar oluşumuna neden olabilmektedir (32). Multipl sklerozis, epilepsi, spinal kord yaralanması ve inme gibi yapısal değişikliklere bağlı ağrılar örnektir (34).

Hasar bölgesine göre nöropatik ağrı iki çeşittir:

i. Santral nöropatik ağrı:

Merkezi sinir sisteminde bir lezyon vardır ve bunun sonucunda talamik ağrı, inme sonrası ağrı, parapleji sonrası ağrı, kuadripleji sonrası ağrı gibi ağrı durumlarına yol açmaktadır. Tedavisi en zor olan ağrı sendromlarının olduğu ağrıdır.

ii. Periferik nöropatik ağrı: Periferik sinir sisteminde lezyonun postherpetik nevralji, diyabette görülen ağrılı nöropatiler gibi inatçı ağrılı durumlardan sorumlu olduğu ağrı durumlarıdır (31).

4.4.2.3. Deaferentasyon ağrısı

Periferik veya santral sinir sistemindeki yaralanma veya lezyonlar sonucunda somatosensoryal uyara iletiminin merkezi sinir sistemine iletiminin kesilmesine bağlı olarak ortaya çıkar (29). Bu olayı bir elektrik devresine benzetecek olursak; sinirin elektriksel deşarjında meydana gelen kısa devreler bir odak olarak ağrıya yol açmaktadır ve yanıcı özelliktedir (34).

4.4.2.4. Reaktif ağrı

Vücudun çeşitli olaylar sonucu karşı bir reaksiyonu olarak, motor ve sempatik aferentlerin refleks aktivasyonu sonucu nosiseptörlerin uyarılması ile ortaya çıkan ağrıdır. Miyofasiyal ağrılar bu grupta yer almaktadırlar (34).

4.4.2.5. Psikosomatik ağrı

Hastanın psikososyal veya anksiyete, depresyon gibi psikolojik sorunlarda doku hasarı varmış gibi algılanması sonucu oluşan ağrılardır (34).

4.4.3. Ağrının Kaynaklandığı Bölgeye göre Sınıflandırılması

4.4.3.1. Somatik ağrı

Somatik sinir lifler ile iletilen aniden başlayan ve keskin olup, sızlama, zonklama en önemlisi de iyi lokalize edilen ağrılardır (35).

4.4.3.2. Visceral ağrı

Kaynağının iç organlar olduğu ağrı, otonom sinir sistemine ait afferent yollarla iletilirler. Farink, trakea ve özofagusun üst kısmından gelen uyarılar glossofaringeus ve vagus sinirleri ile mesane, kolon, rektum bölgesinden gelen ağrı uyarıları ise parasempatik sinirlerle medulla spinalise taşınırlar. Diğer organlardan kaynaklanan ağrılar ise sempatik sinirler aracılığıyla medulla spinalise taşınır. Bu tür ağrılar; kolay lokalize olmayan ve yavaş yavaş artarak vücudun başka bölgelerine doğru yayılan ağrılardır.

4.4.3.3. Sempatik ağrı

Damarsal kökene sahip, sempatik sinir sisteminin aktivasyonu ile ortaya çıkan ağrılardır. Genelde ağrılı bölgede yanma şeklinde ve üşüme hissedilen yakınmaların olduğu ağrı tipidir.

4.5. İnflamatuar Ağrı

4.5.1. İnflamasyon

Mikroorganizmaların veya toksinlerin hücrelere zarar vermesini önlemek amacıyla ya da herhangi bir doku hasarı sonucu oluşan nekrotik ve ölü dokuların

uzaklaştırılmasına yönelik, organizmanın canlılığını sürdürebilmesi için geliştirilmiş koruyucu bir yanıttır (36).

Bu süreçte kan damarları ve lökositler önemli rol oynamaktadır ve inflamasyona yanıt oldukça karmaşık bir olaydır. Çeşitli hücreler tarafından üretilen veya bazı plazma proteinlerinden kaynaklanan mediatörler tarafından inflamasyonun vasküler ve sellüler reaksiyonları başlatılmaktadır. Bunun yanı sıra mekanik ve kimyasal ajanlar, mikroorganizmalar, toksinler, nekrotik hücreler ve hatta hipoksik durum bile inflamatuvar mediatörlerin salınmasına ve inflamasyonun başlamasına sebep olabilir (37).

4.5.2. İnflamatuvar Ağrı Modelleri

İnflamatuvar ağrı hayvan modelleri yaygın olarak doku hasarının neden olduğu kronik ağrı mekanizmalarını incelemek için kullanılmıştır. Deri / cilt altı dokularda, eklem ve kas gibi yapılarda doku hasarı ve hiperaljeziyi oluşturmak için TFA, karragenan, zimosan, mustard (hardal) yağı, formalin, kapsaisin, arı zehiri, asidik tuzlu su, lipopolisakkarit, inflamatuvar sitokinler ve sodyum ürat kristalleri gibi çeşitli inflamatuvar ajanları veya iritanlar kullanılmaktadır.

Buna ek olarak, yakma dondurma ve ultraviyole ışın ile hasar oluşturulmuş hipersensitif ağrı modelleri vardır. Bununla birlikte bu modellerin hiçbirisi kronik ağrıyı her yönüyle taklit etmemektedir. Fakat insan inflamatuvar ağrı modelinin temel özelliklerini oluşturulmaktadır. Bu sayede, hayvanlar üzerinde yapılan araştırmalar, insanda oluşan ağrı durumlarının bazı yönleri için bir fikir vermek vermekte ve hastaların ağrı yönetimi için geliştirilmesine öncü olmaktadır (38, 39).

4.5.2.1. CFA (Tamamlanmış Freund adjuvanı) ile Tetiklenen Ağrı Modeli

Sürekli ağrı ve artritin ortaya çıkması için *Mycobacterium butyricum* yağ süspansiyonu ilk olarak kullanıldı. Bu süspansiyon sıçanın kuyruk tabanına inoküle edilir. Enjeksiyondan sonra poliartrit gelişir ve genel bir hastalık halini alır. Birçok araştırmacı bu modeli tercih etmemektedir. Ancak, ayak tabanına plantar olarak enjekte

edildiğinde ise (etkisiz hale getirilmiş ve kurutulmuş Mycobacterium ve adjuvanından oluşan) CFA lokalize inflamasyon ve kalıcı ağrı üretir. TFA enjeksiyonundan sonra allodini ve hiperaljezi oluşumu 2-6 saat, kronik ağrı süresi ise 1-2 haftayı bulmaktadır. (40, 41).

4.5.2.2. Karragenan ile Tetiklenen Ağrı Modeli

Karragenan, kırmızı deniz yosunlarından elde edilen doğal bir karbonhidrattır (polisakkarit). Sodyum potasyum, kalsiyum tuzları ve ester sülfat içerik oranı karragenan çeşitlerine göre değişmektedir (42). Karragenan intraplantar enjeksiyonu oldukça yaygın bir kullanıma sahiptir. İntraplantar 0.5 mg karragenan enjeksiyonuyla ödem gelişir. Bu olay iki fazda olmaktadır; birinci faz enjeksiyondan 30. dakikadan sonra, ikinci faz ise enjeksiyondan sonraki 1 saat sonrasında başlar ve 3. saate kadar devam eder. Ödem enjeksiyondan 3-5 saat sonrasında pik yapar. 6 mg doz enjeksiyonunda ise ödem 3. günde pik yapar, termal hiperaljezi 4 saat sonra oluşur ve 96 saate kadar devam eder. Lewis (LEW), Fischer 344 (FIS) ve Sprague–Dawley (SD) sıçan cinsleriyle yapılan çalışmalar; 3.5 mg doz uygulaması sonucu en az hiperaljezinin Lewis (LEW) cinsi sıçanlarda, en iyi hiperaljezinin ise Fischer 344 (FIS) cinsi sıçanlarda oluştuğunu göstermektedir. CFA ve karragenan ayrıca yüz alanına enjekte edilerek orofasiyal ağrı çalışmalarında kullanılmaktadır (43).

4.5.2.3. Hardal (Mustard) ile Tetiklenen Yağı Ağrı Modeli

Hardal yağı, küçük fiber irritant olarak davranışsal hiperaljezi gelişiminde rol oynamaktadır. Bu irritant, birincil aferent nosiseptörlerin iyon kanalı transient reseptör potansiyel katyon kanalının çeşidi olan TRPA1'i uyarak inflamatuvar ağrı oluşumunda rol oynamaktadır (44). Hardal yağının uygulanması topikaldir. Kulağa topikal uygulandığında, doza bağımlı olarak; plazma ekstrasvazasyonu ve kulak kalınlığında artış göstererek uygulama sonrasında yaklaşık 30 dakika içinde pik yapmaktadır. Bu topikal uygulama sıçan arka ayak derisine uygulandığında ise plazma ekstrasvazasyonu ve

ödem oluşmakta, ayak volümü % 7-8 artmaktadır. Oluşturduğu ağrı etkinlik süresi 1 saatten azdır.

4.5.2.4. Formalin ile Tetiklenen Ağrı Modeli

Formalin, ağrı mekanizmaları çalışmalarında yaygın olarak kullanılan uzun süreli nosisepsiyona sahip bir irritanttır. % 37'lik formalin solüsyonu arka ayağın dorsal veya ventral yüzeyine subkutan olarak enjekte edilir. Formalin yanıtı 2 fazlıdır; erken/akut faz diye nitelendirilen 1. fazda enjeksiyon sonrası hemen başlar ve 5-10 dakika sürer. Geç/tonik faz yani 2. faz ise enjeksiyondan 15 dakika sonra başlar ve 1saat sürer (45). Nosiseptörlerin kimyasalla direkt uyarılması erken fazda olur, geç faza inflamasyon da eşlik etmektedir. Bu iki faz arasında kalan süre ise spinal ve supraspinal düzeyde aktif inhibisyona bağlı olarak gerçekleştiği kabul edilen fazdır. Fakat birçok araştırma konusu bu iki faz arasındaki anatomik, nörokimyasal ve farmakolojik farktır (2) .

4.5.2.5. Kapsaisin ile Tetiklenen Ağrı Modeli

Kapsaisin, keskin kokulu acı biber bileşeninden oluşur. Bu madde, nosiseptör terminallerinde ısıya-hassas katyon kanalı olan transient reseptör potansiyel vanilloid tip 1 (TRPV1) kanalı aktive eder. Kapsaisin, insan ve hayvanlarda nörojenik inflamasyon ve hiperaljezi çalışmalarında kullanılmaktadır. Kapsaisinin intradermal enjeksiyonu; enjeksiyon dışı alanları kapsayan yangı, hiperaljezi ve allodini oluşturmaktadır. Etkisi 5 dakika içinde kendini göstermekte fakat etki süresi 1saatten azdır.

4.5.2.6. Arı Zehiri ile Tetiklenen Ağrı Modeli

Arı zehiri ağrı modelinde kullanılan arı zehiri tuzlu su solüsyonu ile sulandırılarak hayvanın arka ayağına subkutan olarak enjekte edilir. Enjeksiyondan yaklaşık 1. dakikadan sonra ilk etki görülmeye başlar kalıcı ağrının neden olduğu nosiseptif

davranış (enjekte edilen pençeyi çekme ve kaldırma / yalama) cevabı 1-2 saat sürmektedir. Bu süreci ödem oluşumu ve kızarıklıkla beraber mekanik allodini ve termal hiperaljezi takip eder (72-96 saat). Ayrıca, bu zehirin uygulanmadığı diğer arka ayak pençesinde, enjekte edilen arka ayak pençesinden daha düşük aplitütde termal hiperaljezi oluşumuna neden olmaktadır. Fakat bu enjekte olmamış arka ayak pençesinde mekaniksel allodini oluşturmaz (46).

4.5.2.7. Zimosan ile Tetiklenen Ağrı Modeli

Zimosan, maya hücre duvarlarında bulunan glukun içeriğine sahip, davranışsal hiperaljezi oluşturmada genel olarak kullanılan bir inflamatuvar ajandır. İntraplantar zimosan enjeksiyonu doza ve zamana bağımlı değişken mekaniksel ve termal hiperaljezi, allodini oluşturmaktadır. Mekaniksel hiperaljezi enjeksiyondan sonra maksimum 4 saat içinde meydana gelmektedir. Termal hiperaljezi ise bifazik ve doza bağlıdır. İlk faz ≥ 2.5 mg dozda enjeksiyondan sonra 30 dakika içinde pik yapmaktadır, ikinci faz ise maksimum 4 saat içinde pik değerine ulaşmaktadır. Yüksek doz (5 mg ve 6.25 her bir ayak için) uygulamalarında kronik ağrı gelişmektedir (47).

Tablo 1. İnflamatuvar Ağrı Modellerinin Karşılaştırılması

Kimyasal	Hiperaljezi	Allodini	Etki zamanı	Etki süresi
TFA	Evet	Evet	2-6 saat	1-2 hafta
Karragenan	Evet	Evet	1 saat	24 saat
Hardal Yağı	Evet	Evet	5dk	<1 sa
Formalin 1.FAZ	Yok	Yok	<1 dk	5-10 dk
Formalin 2.FAZ	Yok	Yok	10 dk	1 saat
Kapsaisin	Evet	Evet	1 dk	<1 saat
Arı Zehiri	Evet	Evet	1 dk	96 saat
Zimosan	Evet	Evet	30 dk	24 saat

TFA: Tam Freunds adjuvanı

4.6. Ağrının Nöroanatomisi ve Nörofizyolojisi

4.6.1. Ağrı İletimi ile İlgili Nöronlar

A-delta ve C lifleri omuriliğe girdikten hemen sonrasında ikiye ayrılmaktadırlar. Birkaç segment yukarı aşağıya devam ederek Lissauer traktusunun bir kesimini oluştururlar. Bunların akson kollateralleri de dorsal boynuz içine girer. Nosiseptif sinir uçlarının bu santral terminalleri dorsal boynuz gri cevherinin marjinal zonu (lamina-I) ile substantia gelatinosa (lamina-II)'da yer alan nöronlarla sinaps yaparlar. Bazı A-delta liflerinin uzantıları daha derinde bulunan lamina-V hücrelerine ulaşır (48-50).

Ağrılı uyaranları taşıyan periferik liflerin hücre cismi, yani ağrı yolunun 1. nöronu arka kök gangliyonlarında yer alır. Buradan kalkan lifler spinal korda girer ve substantia gelatinosa'da (SG) arka boynuz hücreleri ile sinaps yapar (2. nöron). Yani ağrı iletiminde ikinci durak spinal korddur. Substantia gelatinosa'da enkefalinergic ara nöronlar bulunmaktadır. Ağrı yolunun 3. nöronu talamustadır (51-53).

Arka boynuzdaki nöronlar üç çeşittir.

a. Projeksiyon nöronları (santral geçiş hücreleri);

Oluşan sinyal ve impulsları anterolateral aferent sistemden üst merkezlere iletirler. Projeksiyon nöronlarını başlıca iki grupta incelemek olasıdır; Lamina I'de yoğun olarak bulunan ve sadece A-delta ve C lifleri ile uyarılan projeksiyon nöronları “nosiseptif spesifik=NS” dır. Bu nöronlar doku zararı oluşturma potansiyelindeki uyaranlara karşı aşırı yüksek eşiğine sahip olup, potansiyel olarak dokuya zarar veren uyarana karşı seçici cevap oluşturmaktadırlar. Lamina I ve V'de bulunan ikinci grup projeksiyon nöronları, hem nosiseptörlerden hem de düşük eşiğe sahip mekanoreseptörlerden lif uyarımı alan “wide dynamic range=WDR” nöronlarıdır. Bu şekilde tanımlanmasının nedeni hem zararsız hem de zararlı uyarılara yanıt vermeleridir. Uyarı değerlendirmesi; uyarının yoğunluğunun frekansına göre belirlemekte ve zararlı uyarıya cevabı maksimal düzeyde olmaktadır (54).

b. Lokal eksitator ara nöronlar;

Ağırlı uyarıları projeksiyon nöronlarına ileterek eskite olmalarını sağlarlar (30). Bu nöronların aktivitesi genellikle A- δ ve C lifleri ile gelen sinyaller ile olmaktadır.

c. İnhibitör nöronlar;

Geniş çaplı liflerle uyarıldığı zaman projeksiyon nöronlarında inhibisyona neden olmaktadır. Ara nöronlardır ağırlı sinyalleri projeksiyon nöronuna iletirler ve genellikle C ve A delta liflerinden gelen sinyallerle aktive olmaktadır talamustadır (51-53, 55).

4.6.2. Ağrıda Rol Alan Nörotransmitterler

Ağrı sinyallerinin iletiminde rol alan ajanlar kimyasal olarak üç sınıfa ayrılmaktadır;

1- Aminoasit

2- Nöropeptidler

3- Monoaminler

4.6.2.1. Aminoasit

A-delta terminal uçlarından ve motor nöronlara sinaps yapan afferentlerden salgılanan eksitator bir aminoasittir. Dorsal boynuz projeksiyon hücrelerindeki glutamat etkisi çok kısa süreli veya çok uzun süreli depolarizasyona neden olabilmektedir. 'Ligand-kapılı' Na⁺/K⁺ iyonları'nı açması ile çok kısa olan eksitan etki. Ortaya çıkmaktadır. Çok kısa eksitan etkisi, NMDA reseptörünü kullanması ile ise uzun süreli depolarizasyon etkisi ortaya çıkmaktadır.

L-glutamat (Glu) ve L-aspartat (Asp) merkezi sinir sistemindeki en önemli uyarıcı nörotransmitterlerdir. Glu, primer afferent lifler ile ikincil spinal dorsal boynuz nöronları

arasındaki nörotransmisyonunda transmisyon için çeşitli kriterleri yerine getirmektedir. Glu benzeri immünoreaktivite küçük dorsal kök gangliyonlarında ve yüzeysel dorsal boynuzunda terminallerinde lokalize olmuştur.

Davranış çalışmalarında; uyarıcı amino asit agonistleri termal hiperaljezi oluşturmada, antagonistleri ise zararlı uyaranların ortaya çıkardığı etkiyi bloklamada kullanılmaktadır. Bu veriler; primer afferent lifleri ve sekonder dorsal boynuz nöronları arasındaki uyarıcı amino asitlerin nörotransmisyonundan yararlanılarak tanımlanmıştır (56).

4.6.2.2. Nöropeptidler

Nöropeptidler özellikle C lifleri eksitasyonu ile meydana gelmekte ve projeksiyon hücrelerinde çok yavaş ve çok uzun süreli depolarizasyona neden olmaktadır. Bu nöropeptitler arasında kalsitonin gen ilişkili peptid (CGRP), p maddesi, nörokinin-A, kolesistokinin yer almaktadır. P maddesi, primer (periferik) afferent sinirlerin terminal uçlarında bulunur ve ağrı iletiminde kimyasal mediatörlerden biri olarak rol oynar. P maddesi; amigdal nükleus, raphe nükleusu, periakvaduktal gri madde gibi bölgelerde yoğun olarak bulunmaktadır. Ağrılı stimulusda olduğu gibi P maddesi omurilik nöronlarını uyarabilme özelliğine sahiptir (57). Ayrıca birden fazla nöropeptid aynı anda C liflerinin santral uçlarından salgılanabilmektedir.

4.6.2.3. Monoaminler

Noradrenalin, serotonin, asetilkolin ve NO (nitrik oksit) gibi aminler monoamin grubunda ise, örnek verilebilir. Noradrenalin, serotonin, asetilkolin, dopamin gibi amin grupları biyojenik amin yapısındadır.

a. Serotonin (5-HT)

5-HT, dorsal boynuzunda akson ve Rafe-spinal nöronların terminallerinde ve özellikle yüzeysel lamina, lamina I-III mevcuttur. Beyin sapı Rafe çekirdeğindeki nöron

gövdelerinde sentezlenir. İnen inhibitör sistemin etkisini artırarak ağrı inhibitörü (supresörü) olarak rol oynarlar. 5-HT1B ve 5-HT1D reseptör alt tipi, nosiseptif nöronların seçici inhibisyonunun aracılık ettiği ve 5-HT1A agonistleri nosiseptif yanıt oluşumunda rol oynadığı öne sürülmüştür (56).

b. Norepinefrin (NE)

Sempatik sinir sistemin genel olarak mediyatörü norepinefrindir. Norepinefrin, lokus seruleus, lateral tegmental sistem ve dorsal meduller gruptaki nöronlardan kaynaklanmakta ve talamus, serebral korteks, serebellum ve spinal korda projekte olmaktadır. A5, A6 ve A7 noradrenerjik hücreler ağrıyla ilişkili olan diğer çekirdeklerle bağlantı kurmakta ve orta beyinde bulunan PAG'den projeksiyonlar almaktadır (58). PAG, kompleks güçlü bir antinosiseptif etki gösteren bölgedir.

Omuriliğin dorsal boynuzunda α_2 adrenerjik reseptörlerin aktivasyonu, insan ve hayvan modellerinde güçlü analjezik etkiye sahiptir. Dorsal boynuzda noradrenalin ve α_2 -adrenerjik reseptörler yoğun olarak bulunmaktadır. Bununla birlikte, α_{2c} adreseptör-IR ve IR-enkefalin arasında bazı ortak-lokalizasyon olduğu görülmektedir. Bu durum, α_{2c} adreseptörlerin spinal internöronlar bir alt kümesi tarafından eksprese edilebilir olduğunu düşündürmektedir (59).

Yapılan çalışmalarda, spinal kord da 6-hidroksidopamin lezyonları önemli derece NE miktarında düşüşe ve hiperalejiye neden olduğu görülmüştür (60).

Kısa süreli veya uzun süreli kronik uyarıların nosiseptiv stimülasyonu ile spinal düzeyde NE salınımını arttırmaktadır. NE, düşük dozlarda reflekslerin baskılanmasında, yüksek dozlar da ise reflekslerin fleksiyonunu sağlamaktadır. NE'nin dorsal boynuzunda inhibitör, ventral boynuzda ise eksitatör etkisi olduğu düşünülmektedir. Ayrıca, dorsal boynuz nöronlarının NE'ne, ventral boynuz nöronlarından daha duyarlı olduğu ortaya çıkmaktadır (61).

c. Dopamin (DA)

Spinal kordda bulunmakta ve supraspinal nöron kaynaklıdır. D1, D2, D3, D4 ve D5 gibi alt grupları vardır. Özellikle dopamin D2 reseptör agonistleri dorsal boynuzdaki

nöronları zararlı uyarıcı uyarılmasına karşı seçici inhibisyon cevabının oluşuna neden olmaktadır. Bununla birlikte diğer dopamin alt türlerinden D1 ve D5 reseptörler eksitator, D2, D3 ve D4 reseptörler inhibitör olarak rol oynamaktadır.

d. Asetilkolin (ACh)

Kolinerjik hücrelerin büyük bölümü orta septal çekirdek, diagonal band çekirdeği ve bazal çekirdekte yer alır. Bu hücreler hipokampus, serebellum ve serebral kortekse projekte olurlar. Nöromusküler kavşak ve parasempatik sinir sisteminde de yer alır. İki tür reseptöre sahiptir; nikotinik reseptörler ve muskarinik reseptörler (56).

4.6.3. Nosisepsiyon ve Primer Afferent Lifler

Ağrılı uyarın ilk olarak, serbest sinir uçlarındaki özelleşmiş sinir uçları (nosiseptör) olan fizyolojik reseptörler ile alınıp bu reseptörlerin aktivasyonu ile santral sinir sistemine götürülmesi sonucu ağrı algılanması gerçekleşmektedir (62). Tüm nosiseptör uyarılar ağrı oluşturmakta, fakat tüm ağrılar nosisepsiyondan kaynaklanmamaktadır (63). Nosiseptörler periferik terminalleri ağrılı uyarana karşı hassas primer afferent ve serbest sinir sonlanmalarıdır. Miyelinsiz C lifleri ile miyelinli A-delta liflerinin distal uzantıları primer afferent duyuşal nöronu oluşturmaktadır (64).

Uyarının yayılma tipi, ağrının niteliği gibi faktörler reseptör sinir lif kompleksine ve innerve olan organa bağlıdır. Deri altı dokularında bulunan nosiseptörler uyarana hassas primer afferent serbest sinir uçlarıdır (65). Deri ve deri altı bölgesinden başka; diş pulpası, kalp kası, iskelet kasları, kemik ve eklemlerde bulunur.

A-delta lifleri iyi lokalize edilebilen ağrı grubudur çünkü bu liflerin uçları uyarıldıkları tipe göre mekanik veya termal nosiseptör olarak adlandırılır. Ayrıca bu nosiseptörlerin aktivasyonu iğneleyici ve keskin tiptedir. A-delta lifi 2 grupta sınıflandırılır; 1.yüksek ağrı eşliğine sahip mekanoreseptörler, 2. yüksek sıcaklığa (65-73 derece) duyarlı ve aşırı soğuğa duyarlı (-15 derece) reseptörlere sahiptir.

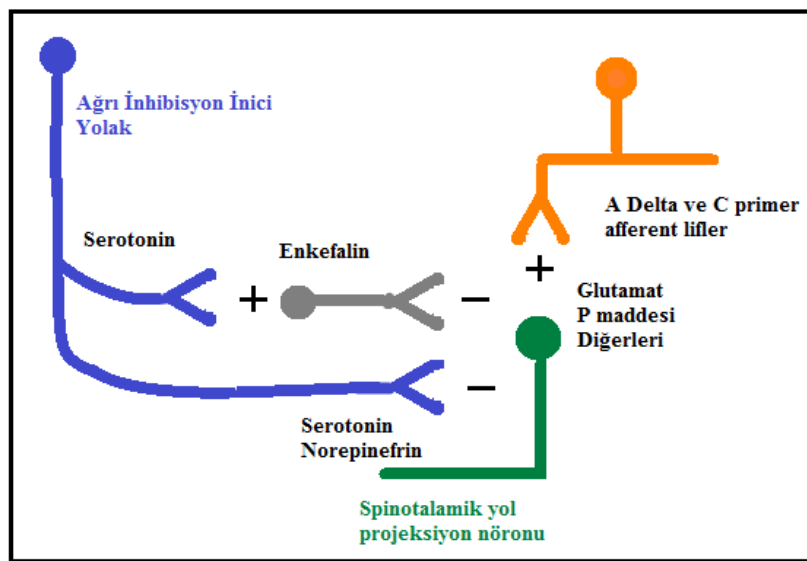
C lifleri ise yanıcı, inflamasyondaki gibi süreklileşen kronik ağrı karakterinden sorumludurlar. Aşırı soğuk veya sıcak, mekanik, kimyasal uyarılar ile aktive olmaktadır. Ayrıca, herhangi bir inflamasyon durumunda aktive olan zararlı

uyaranlara karşı yanıt vermeyen sessiz reseptör olarak adlandırılan yeni lif sonlanmaları ortaya çıkmaktadır. Nosiseptörler, reseptörlerden daha yüksek ağrı eşiğine sahiptir ve nosiseptörlerin hassasiyeti ağrı eşiğinin düşmesine neden olabilmektedir. Genel olarak bakıldığında ise ağrı olgusu, çeşitli uyaranlar ile nosiseptörlerin özel aktivasyonu ile oluşmaktadır (65, 66).

4.6.4. Spinal Kord Dorsal Boynuzu

A –delta ve C lifleri, spinal kordun dorsal boynuzunda sekonder afferent nöronlar ile sinaps yapmaktadır. Dorsal boynuz histolojik olarak, Rexed lamina adında 10 tabakaya ayrılmıştır. A –delta ve C lifleri, Rexed lamina I, II ve buna ek olarak projekte olan diğer laminalardaki nosiseptif spesifik nöronlara bilgi iletiminde görev almaktadırlar. Primer afferent terminalleri, glutamat ve P maddesinin de dahil olduğu birçok sayıda uyarıcı madde salınımı yapmaktadırlar.

Dorsal boynuz ve afferent nöronlar, internöronlar ve inisiyasyon yolları arasında kompleks etkileşimler meydana gelmektedir. Bu etkileşim sekonder afferent nöronların aktivasyonuna neden olmaktadır. Glisin ve gamma-aminobütirik asit (GABA) internöronların inhibisyonunda rol oynayan çok önemli nörotransmitterlerdir (67).



Şekil 1. Dorsal boynuzdaki inhibitör ve eksitatör sinapslar ve transmitterleri

4.6.5. Nosiseptif Çıkıcı Yolaklar

Spinal korda I. duyu siniri ile gelen nosiseptif bilginin buradaki etkileşiminden sonra projeksiyon nöronları ile subkortikal ve kortikal yapılara iletilir. Spinal reflekslerin nosiseptif uyarının segmental refleks cevap oluşumu; spinal kordun arka boynuzundan A delta ve C lifleri ile gelen impulslar antero-lateral boynuz sempatik nöronları stimülasyonuna neden olurlar ve sempatik refleks, anterior boynuzdaki motor nöronları uyararak da motor refleksle neden olmaktadır (74).

4.6.5.1. Spinotalamik yol

Bu yol, zararlı uyarın bilgisini beyne iletiildiği ve tahmin edilebileceği gibi önemli, çok yönlü bir sisteme sahip karmaşık bir yoldur. Dorsal kök gangliyonundaki diğer duysal nöronlar gibi, nosiseptif sinir hücrelerinin aksonları dorsal kökler ile spinal korda girmektedir. Ağrı ve sıcaklık reseptörlerinden bilgi taşıyan aksonlar genel olarak en fazla dorsal köklerin lateral bölgesinde bulunmaktadır. Fakat bu nöronların hücre gövdeleri gangliyon içinde lokalize değildir (Mekanasensor sinir hücrelerinden küçük olmalarına rağmen). Aksonlar dorsal boynuz içinde dallanıp yayılırlar ve birçok Rexed's laminada yer alan nöronlara temas ederler. Hem A delta ve C lifleri uzantılar göndererek Rexed's lamina I'deki (marjinal bölge olarak da adlandırılır) ve lamina II'deki (substantia gelatinosa olarak isimlendirilir) nöronları innerve ederler. Nosiseptif uyarı, lamina I, V ve VII. nöronlarından köken alır ve orta hattı geçerek anterolateral çıkıcı sistem içinde ilerler talamusun VLP (ventral posterolateral) çekirdeğinde sonlanır. Daha sonra bu uzantılar talamusdan çıkarak kortekse gider ve postsentral gyrusda sonlanır. Ağrının diskriminatif (ayırma) boyutları (yer, şiddet ve zaman gibi) ile algılanmasını sağlamaktadır (68).

4.6.5.2. Spino-retiküler yol

Filogenetik olarak eski olan bu sistem genel olarak diğer ektremitelerden aldığı somatosensoriel ve ağrı bilgisini taşımakla görevlidir. Adından da anlaşılacağı gibi, bu sistem spinal kord kaynaklıdır ve beyin sapı bölgesindeki retiküler formasyonda (RF)

sona ermektedir. Liflerin en çok medullada ve alt ponsdaki RF sonlandığı bilinse de, bazı lifler orta beyine kadar çıkabilmektedir. Bu liflerin genel uyarım yerine kendi başına duyuşal ayırimda büyük bir rolü vardır. Korteksi ve subkortikal yapıları (limbik sistem ve diensefalon) uyanıklık içinde tutma gibi önemli bir rol üstlenmektedir. Eğer organizma uyku, dinlenme hali gibi çevresel faktörlere farkındalığın az olduğu durumlarda vücudun dışarıdan gelen beklenmedik zararlı uyarana karşı genel olarak alarm hali oluşturma potansiyeline sahiptir (69).

4.6.5.3. Spinomezensefalik yol

Periakvaduktal gri madde ve diğer orta beyin yapılarına, mezensefalik retiküler formasyona kadar yükselmektedir. Bu yoldaki hücreler, deri ve eklem ve kaslar da dahil olduğu diğer yapılardan gelen, hem zararlı hem de zararsız girdilere yanıt oluşumunu sağlamaktadır (70).

Ön beyindeki parabrakial çekirdek, amigdala, hipotalamus ve diğer limbik sistem yapılarına projekte olmaktadır. Bu yolun periakvaduktaya bağlantı yapması nosisepsiyonda önemli bir yere sahiptir. Çünkü burada yer alan analjezik etki sağlayan enkefalinerjik nöronlar yer almaktadır. Periakvaduktal gri cevher antinosiseptif mekanizmaların tetiklendiği en önemli bölgelerden biridir (71).

4.6.5.4. Spinoparabrakial Yol

Yan parabrakial bölgedeki (PB) pontomezensefalik seviyede sonlanan beyin sapındaki lamina I nöronlarına güçlü bir projeksiyon yaparlar. Hem lamina I spino PB ve hem de PB nöronları büyük oranda, A-delta ve C lifleri, zararlı uyarana oluşan özel yanıtı göre yönlendirilmektedir. Bu nöronlar zararlı uyarın aralığındaki termal ve bunun yanı sıra mekanik uyarınları kodlamaktadır. PB nöronları aynı zamanda, somato viseral girdilerin aldığı zararlı viseral uyarınlara cevap oluşumunda rol almaktadır. Çeşitli afferent yollarıyla birlikte nosiseptif yolu oluşturmaktadır (72).

4.6.5.5. Spinohipotalamik Yol

Yapılan anatomik çalışmalar spinohipotalamik nöronlarının nispeten büyük bir kısmının toraks spinal segmentinde yer aldığını göstermektedir. Bu nöronlardan veya deri altı yapılardan (iç organlar, eklem kas gibi) köken alan zararlı veya zararsız uyarılara karşı yanıt oluşumunda sorumludur (73).

Bunun yanı sıra, bu yol retiküler formasyonda sinaps yapmamaktadır. Dil, deri, dudak, kornea, genital organlar, gastrointestinal traktus ve intrakranial kan damarlarından emosyonel önem taşıyan bilgileri direkt hipotalamusa iletmektedir (75).

4.6.5.6. Postsinaptik Dorsal Kolon Yolu

Postsinaptik dorsal kolon (PSDK) nöronlarının % 64'ü sadece zararsız mekanik uyarılara karşı geri kalan % 36 ise zararsız uyarılara karşı yanıt oluşturmaktadır. Özellikle yapılan çalışmaların sonucunda bu yolağın visseral ağrı iletiminde önemli olduğu düşünülmektedir. Visseral noisepsiyon ve bunun yanı sıra somatik dokunma ve pozisyon duygusu talamusa bu yolla taşınmaktadır (76).

4.7. Antinosiseptif İnici Sistemler

Genel olarak beyin sapı-spinal yolların ağrıyı inhibe ettiği düşünülmektedir. Bununla beraber, birçok çalışma oluşan bilgiler doğrultusunda inisi yolakların ayrıca ağrı fasilitör etkiye sahip olduğunu kanıtlamaktadır (77). Özellikle endojen opioid peptidlerin keşfi ile ağrılı uyarılara karşı spinal ve supraspinal düzeyde enkefalinerjik ve monoaminerjik bir inhibisyon varlığı ortaya çıkmıştır.

Orta beyinde periakvaduktal gri cevher (PAG) bölgesi tehlike ve stres anında sağkalım ile ilgili yanıtları koordine eden farklı bir alt bölgeler halinde organize olmuştur. Periakvaduktal gri cevherin stimülasyonu ile davranışsal analjezi ortaya çıkmaktadır. Enkefalinerjik nöronlar mezensefalik periakvaduktal gri cevherde yer almaktadır. Bunlar serebral korteks ve hipotalamus ile bağlantı halindedirler ve hipotalamus kökenli nöronlar endorfin taşınımında rol oynamaktadır. Yapılan birçok çalışma sonucunda mezensefalonda, silvius kanalının (beyinde III. Ve IV. ventriküller

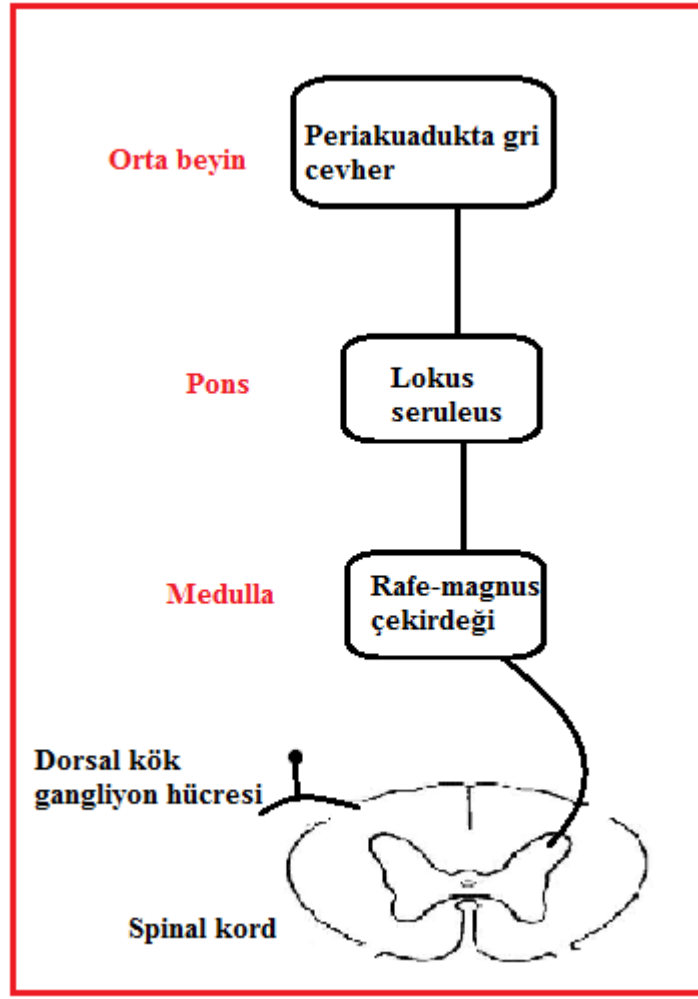
arasındaki kanal) çevresine yerleşmiş nöronların oluşturduğu periakvaduktal gri cevherden başlayan yolak, bulbustaki retiküler formasyona giderek nükleus rafe magnus ve nükleus retikularis gigantosellularis'teki serotoninerjik nöronlarla sinaps yaptığını kanıtlamıştır (78).

Serotonerjik nöronlarla sinaps yapmasıyla diensefalik endorfin ve mezonsefalik enkefalin nöronları bulbusta yer alan serotonin nöronlarını uyarırlar. Buradan kalkan uyarılar da medulla spinalis arka boynuzu ve trigeminal sinirin sensoriyal çekirdeğine giderek presinaptik ve postsinaptik bağlantılarla inhibisyon oluşturmaktadır. Supraspinal inhibisyondan sorumludurlar (79, 80).

Lokus serelus'dan çıkan noradrenerjik lifler serebral korteksi, limbik sistemi, beyin sapını ve medulla spinalisi innerve ederler bu liflerin esas nörotransmitter maddesi noradrenalin'dir. Bu yolun başlangıcında yer almakta olan opioid reseptörlerin aktivasyonu ile supraspinal analjezi oluşmaktadır.

Antinosiseptif spinal segmental mekanizmada özellikle yerleşimli enkefalin'erjik nöronlar rol oynar. Ayrıca bu bölgede dinorfin taşıyan nöronlar yoğun olarak bulunmaktadır. Hücresel düzeyde, lamina I ve II'de bulunan nosiseptif projeksiyon nöronları üzerinde K^+ iyonu membran iletkenliğini arttırması ve hiperpolarizasyon oluşturmasıyla monoamin'erjik ve enkefalin'erjik antinosiseptif etkiler ortaya çıkmaktadırlar.

Ayrıca genel bir inhibitör madde olarak gama amino butirik asit (GABA)'nın da antinosiseptif mekanizmalara katıldığı düşünülmektedir. A7 noradrenerjik nükleusu innerve eden bazı inhibitör GABA'erjik ve enkefalin içeren nöronlarlar vardır. Projeksiyon nöronları üzerinde hızlı ve kısa süreli inhibisyon, en çok monoamin'erjik transmitterler GABA ve kısmen de enkefalin ile olmaktadır. Endorfin, kısmen enkefalin ve somatostatin ile daha uzun süreli inhibisyon oluşmaktadır. Glisin ve GABA'nın medulla spinaldeki segmental ağrı inhibisyonunda önemli rolleri vardır. Bunlar dışında somatostatin ve bombesin gibi nöropeptidler de inhibitör etki yapmaktadırlar.



Şekil 2. Nosiseptif inisi sistemin şematik diyagramı

4.8. Noradrenerjik Ağrı Modülasyonu

Noradrenalin ağrının esas kontrolüyle ilişkilidir. Norepinefrin ana kaynağı periferik sempatik sinirler ve noradrenerjik beyin sapı çekirdeklerinin A1-A7 merkezidir. Periferal norepinefrin sağlıklı dokulardaki ağrı üzerinde az bir etkiye sahipken, hasarlı dokularda ağrının şiddetlenmesi dahil olmak üzere, değişken etkilere sahiptir. Periferal nosiseptivi, doku hasarı kaynaklanan noradrenerjik reseptörlerin ekspresyonu, sempatik sinir liflerinin ve birincil afferent nosiseptörlerdeki iyonik kanallarında meydana getirdiği değişiklikler ile ilişkilendirilirken, bağışıklık sistemi ile etkileşimi de norepinefrin ile uyarılan periferik antinosisepsiyonda muhtemelen katkıda

bulunmaktadır. Spinal kordda, inisi sistemler tarafından salınan norepinefrin, primer afferent nosiseptörlerinin merkezi terminallerinde bulunan alfa-2A-adrenoreseptörlerinin inhibe edici etkisi (presinaptik inhibisyon), direkt olarak alfa-2 adrenerjik ağrı giderici etkide bulunması (postsinaptik inhibisyon) ve alfa-1 adrenerjik reseptörün inhibitör interneuronların aktivasyonuna aracılık etmesi ile ağrı baskılanmaktadır. Ayrıca, spinal dorsal boynuzda uyarıcı interneuronların akson terminallerinde bulunan alfa-2C-adrenoreseptörlerin büyük olasılıkla ağrının spinal kontrolüne katkıda bulunmaktadır. Supraspinal düzeyde, norepinefrin ve noradrenerjik reseptörler ile ortaya çıkan ağrı modülasyonunun etkileri; supraspinal sitesi, adrenoreseptörünün tipi, ağrı süresi ve ağrının patofizyolojik durumu gibi birçok faktöre bağlı olarak değişiklik göstermektedir. Bazal koşullarda noradrenerjik sistem az etkiye sahip olsa da, ağrının süreklilik gösterdiği kronik ağrı gibi durumlarda ağrının noradrenerjik geri bildirim inhibisyonunu indüklemektedir. Noradrenerjik sistemler, davranışsal durumdaki değişikliklerin neden olduğu ağrı tipi gibi ağrıların inisi ve çıkıcı kontrolüne katkıda bulunmaktadır. Yaralanma veya inflamasyon sonucu, merkezi ve periferik noradrenerjik sistemin antinosisseptiv etkinliğini etkileyebilen çeşitli estetik değişikliklere mağruz kalabilmektedir (81).

4.9. Noradrenerjik Ağrı İnhibitör Geribildirim Döngüsü

Endojen norepinefrin, spinal kordda locus coeruleus, A5 ve A7 nükleusu gibi beyin sapının noradrenerjik çekirdeklerinden köken alan inen aksonlar tarafından salgılanmaktadır. Bu noradrenerjik yapıların uyarılması, norepinefrinin spinal salgılanmasına neden olmakta ve bununla birlikte alfa-2-adrenoreseptör antagonistleri bu salınımı zayıflatarak spinal antinosisepsiyona neden olmaktadır (82). Buna ek olarak, beyin sapında bulunan; periaquaduktal gri cevher veya rafe magnus çekirdeği gibi noradrenerjik olmayan bazı yapıların direk aktivasyonu spinal düzeyde bir antinosisepsiyona neden olmaktadır. Bu olay spinal kontrolündeki alfa-2 adrenoreseptör antagonistinin geribildirimi ve norepinefrinin spinal seviyede salınımıyla ilişkilendirilmektedir. Periferik zararlı uyaran noradrenerjik inisi yolları aktive ederek spinal düzeyde çıkan ağrı sinyallerini basılayıcı negatif geribildirim sistemi

oluşturmaktadır. Sürekli uyaran boyunca, noradrenerjik ağrı düzenleyicinin rolü oldukça önemlidir. Bu bulgular; alfa-2-adrenoseptör antagonist ya da alfa-2A adrenoseptörünün devre dışı kalması durumunda sönümsüz zararlı bir uyarının, noradrenerjik geribildirim kronik ağrı regülasyonundaki inhibisyonun katılımı ile önemli derecede spinal nosiseptif yanıtlar arttığını göstermektedir (81).

4.10. Alfa-2 Adrenerjik Agonistlerin Analjezik Etkilerinin Mekanizması

Beyin sapından köken alan inen noradrenerjik sistemler medulla spinalis seviyesinde ağrı kontrolünde katkıda bulunmaktadır. Locus seruleus ve subseruleus nukleuslarından kaynaklanan noradrenerjik nöronlar medulla spinalisin arka boynuzunda projekte olurlar. Bu yolağın stimülasyonu noradrenalin salıverilmesinden kaynaklı bir antinosisepsiyon sağlamaktadır. Locus coeruleusun stimülasyonunun bu etkisi nonselektif adrenerjik antagonist fentolamin ve selektif alfa-2 bloker yohimbin ile azaltılmasına rağmen selektif bir alfa-1 antagonist olan prazosin ile değişmemektedir (83). Bununla birlikte, noradrenalin ağrı medyatörlerinden olan P maddesi ve CGRP (kalsitonin gen ilişkili peptid)'e salıverilmesini inhibe etmektedir.

4.11. Alfa-2 Adrenerjik ve Opioiderjik Sistemler Arasındaki Etkileşim

Birçok deneysel bulgu opioid analjeziklerin sağladığı antinosisepsiyonda, ayrı reseptörler üzerinden etki gösterilmelerine rağmen alfa adrenerjik agonistlerin de rol oynadığını göstermektedir. Akut ve kronik inflamatuvar ve nöropatik ağrıya karşı opioid ve alfa-2 adrenerjik reseptör agonistlerinin spinal seviyede antinosisepsiyon sağladığı görülmektedir. Elektro fizyolojik çalışmalarda medulla spinalis düzeyinde klonidinin morfinin inhibitör etkisini potansiye ettiğini göstermiştir (84).

Yapılan birçok çalışmaya göre opioid reseptör aktivasyonu sonradan alfa-2 adrenerjik reseptörlerin uyarılmasına neden olabilmekte ve alfa-2 adrenerjik agonistlerin enkefalinergic nöronlarda opioid peptid salıverilmesini sağladığı ortaya çıkmaktadır (85).

Opioid bağımlılığındaki yoksunluk sendromu belirtilerinin büyük bölümü santral noradrenerjik sistemde hiperaktivite oluşmasına bağlı olmaktadır ve alfa-2 adrenoseptör agonistlerinin kullanımının bu opioid bağımlılığını azalttığını ortaya çıkarmıştır (86).

4.12. Endojen Enkefalin Opioid Sistem

Opioid sistemler, zararlı duyuşal inputları işleme ve kontrolünde, son derece çeşitli homeostatik fonksiyonları içermektedir. Antinosiseptif sistem son derece karışık olan ağrı modülasyonunu içermektedir. Opioid analjeziklerinin etkilerinin araştırılmasında endojen opioid sistem özelliklerinin iyi bilinmesi çok önemlidir. Endojen opioid peptidler; enkefalin bağlayıcı δ -opioid reseptörler, endorfin bağlayıcı μ -opioid reseptörler, dinorfin bağlayıcı κ -opioid reseptörler olarak sınıflandırılmıştır. Bu reseptörler, G protein-kenetli reseptör ailesine aittir (87).

Bu reseptörler santral sinir sisteminde özellikle medulla spinalisin dorsal boynuzunun lamina I'inde ve orta beyinde, santral sinir sistemi dışında viseral ve vasküler düz kaslarda, muskuloskeletal yapılarda, sempatik ve duyuşal periferik sinirlerin terminallerinde bulunmaktadırlar. Opioidlerin sinaptik aktivitesi perisinaptik opioid reseptörlerin bağlanması, nörotransmitterlerin uyarımının inhibe edilmesi, nöronların aktivasyonunda azalma ve postsinaptik hiperpolarizasyonu kapsamaktadır.

δ -opioid reseptörleri: Enkefalinlerin yüksek affinite gösterdiği reseptörlerdir. Ruhsal durumların oluşumunda; heyecan, duygulanma gibi durumların düzenlenmesinde görev alan limbik sistemdeki nöronlar bu reseptörlerce zengindir. Ayrıca, δ reseptörler ile κ reseptörler birlikte spinal düzeydeki analjezik etkinlikte rol oynamaktadır. Bunun yanı sıra bu reseptörlerin kusma üzerine de etkileri bulunmaktadır.

μ -opioid reseptörleri; β endorfin ve morfinin yüksek afinte gösterdiği reseptörlerdir. Bu reseptörün 2 alt tipi: μ_1 ve μ_2 reseptörleridir. μ_1 reseptörleri periakvaduktal gri madde, nükleus raphe magnus, medial talamus ve lokus seruleus gibi supraspinal analjezide rol oynayan nöronlar bulunmaktadır. Bunun dışında hipertermi, bulantı, kusma, kabızlığın oluşumuna aracılık etmektedir.

μ_2 reseptörleri ise analjezi oluşumunda rol oynamazken solunum depresyonu, bradikardi ve fiziksel bağımlılık etkisinden sorumludurlar.

κ -opioid reseptörleri: dinorfin ve benzomorfan türevi opioidlerin yüksek afinite ile bağlandıkları reseptörlerdir. Bu reseptörlerin 3 alt tipi vardır; κ_1 spinal analjeziden , κ_2 ve κ_3 ise supraspinal analjeziden sorumludurlar.

Bu reseptörler analjezik etkinin yanı sıra minimal solunum depresyonundan sorumludur. Bunun yanı sıra, opioid agonist-antagonistleri kapa reseptörlerini etkilemektedir.

Hücre membranındaki G proteinlerle opioid reseptörler arasında ilişki bulunmaktadır. Opioidler etkilerini, G proteinleri vasıtasıyla adenil siklazı inhibe edip hiperpolarizasyon meydana getirerek yapmaktadırlar. Ayrıca, uyarıcı nörotransmitterlerin presinaptik salınımını ve mebrandan kalsiyum iyon geçişi opioidler tarafından engellenebilmektedir. Enkefalinler, sinir terminalleri membranlarında kalsiyum kanallarını bloke ederek presinaptik inhibisyona neden olmaktadır. Bunun sonucunda enkefalinlerin bloke ettiği kalsiyum kanallarından sinaptik bölgeye nörotransmitter salınımına engel olmaktadır.

Çeşitli uyaranlar sonucu ağrı durumunun ortaya çıkmasıyla ve bu ağrı durumunun kontrolünde rolü olduğu bilinmekte olan endojen opioidlerin salınımına neden olmaktadır. Ağrı kontrolü; primer ve sekonder somatosensorial bölgelerde, kortekste, talamusun ventroposteriouru, santral gri madde, lokus seruleus, medulla spinalisin posterior boynuzu ve primer sensoriyel afferent liflerinin serbest uçlarında meydana gelmektedir.

Analjezi sisteminde; β -endorfin, serotonin ve enkefalin gibi nörotransmitterler rol oynamaktadır. Periakuaduktal gri madde ve periventriküler nükleuslardan köken alan birçok sinir enkefalin salgılamaktadır. Enkefalinler μ_1 reseptörüne yüksek afinite ile bağlanarak supraspinal analjezide rol oynamaktadırlar.

Rafe nükleuslarından köken alan ve omuriliğin dorsal boynuzunda sonlanan sinir liflerinden serotonin salgılanmaktadır. Serotoninin salınımı sonucunda lokal medulla spinalis nöronlarından enkefalin salınımına neden olmaktadır. Enkefalinler, C tipi ve A delta tipi sinir liflerinin dorsal boynuzda sinaps yaptığı yerlerde presinaptik ve postsinaptik inhibisyona neden olduğu düşünülmektedir (88).

4.13. Opiorfin

Opiorfin ve spinorfin; endojen analjezik aktiviteye sahip enkefalinaz inhibitörleridir. Nosiseptif bir uyarana yanıt olarak salınan enkefalinler antinosiseptif cevapta ilişkili olduğu kanıtlanmıştır. Enkefalinlerin degradesyonunun önlenmesi biyolojik olarak kullanılabilirliğini arttırmakta ve böylece ağrı analjezik etki potansiyelinin artmasını sağlamaktadır ve bu olayda opiorfinin büyük rolü olduğu düşünülmektedir. Şimdiye kadar keşfedilen analjezik maddeler hem kısa süreli etki potansiyeline hem de uzun süreli kullanımda ciddi yan etkilere sahiptir (6). Bu nedenle günümüzde ağrı tedavisinde alternatif yeni ilaç çalışmalarına büyük önem verilmektedir. Yapılan ağrı davranış çalışmalarında, insan tükürüğünden elde edilen opiorfin QRFSR-peptit, enkefalinlerin endopeptidaz ve amino peptidaz-N tarafından degrades edilmesini önlemekte ve böylece ağrı algı durumunun inhibisyonuna neden olabilmektedir. Ayrıca, opiorfin, morfin benzeri bir antinosiseptif etkiye sahiptir. Opiorfinin subkronik tedavilerde, μ -opioid agonisti morfin benzeri analjeziklere göre minimal düzeyde yan etkiye sahip olduğu, bağımlılığa yol açmadığı belirtilmiştir. Buna ek olarak, maksimal doz miktarının ağrı inhibisyonunda, morfin kadar etkili olduğu kanıtlanmıştır (6). Akut ve kimyasal uyarılar ile tetiklenmiş uzun süreli ağrı durumunu opiorfinin doza bağımlı olarak engellediği ve termal ısıyla tetiklenen akut ağrı çalışmalarında ağrıyı spinal opioiderjik yolları etkileyerek engellediği ortaya çıkmıştır. Bunun yanı sıra zararlı uyarana karşı endojen olarak lokal salgılanan enkefalinler opioid reseptörlere morfin gibi yüksek verimlilik oranında bağlanamadığından dolayı ve ayrıca opioid reseptörlere bağlı enkefalinler az olduğundan opiorfinler morfin kadar analjezik etkiye sahip değildir (89).

Sonuç olarak opiorfinin, ağrı algısının dinamik kontrolünde analjezi ve yan etki dengesini, morfin gibi analjezik maddelerden çok daha iyi dengeleyebildiği bulunmuştur. Ayrıca opiorfin, fizyolojik yapıda olması kullanım güvenirliliğini gibi pozitif etkiye sahip olmasından dolayı dünyada büyük bir klinik problem olan ağrı tedavisinde kullanımına yönelik ağrı kesici ilaç geliştirmede potansiyel öncü madde haline gelmiştir (89).

5. GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışma protokolünün etik onayı (Onay kodu: 2010/7) Karadeniz Teknik Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu'ndan alınan bu araştırma Karadeniz Teknik Üniversitesi Fizyoloji Anabilim Dalı'nda yapıldı.

5.1. Deney Hayvanlarının Seçimi

Bu deneysel çalışmalarda erişkin (>8 haftalık, ortalama ağırlıkları yaklaşık 180-200 gram) Sprague-Dawley cinsi erkek sıçanlar Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Cerrahi Araştırma Merkezi'nden sağlanarak kullanılmıştır. Hayvanların bulundukları ortamın sıcaklığı 22-25 °C arasında ve % 65-70 nem içeren ortam koşullarında ve hayvanlar 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık ortamda, her kafeste 4 hayvan konarak tutulmuştur. Beslenmeleri standart pelet halindeki sıçan yemleri ve musluk suyuyla (*ad libidum*) sağlanmıştır. Her gruptaki sıçanlar işaretleme yöntemiyle numaralandırılmıştır. Çalışmada toplam 60 sıçan kullanılmıştır.

5.2. Deney Düzeni

Bu çalışmada kullanılan hayvanlar 10 ana gruba ayrıldı (her grupta 6 sıçan olmak üzere) ve sıçanların bazal vücut ağırlıkları ölçüldü. Çalışmada kullanılan deney grupları, ilaç uygulama doz ve veriliş yoluna ait ayrıntılar Tablo 2'de sunulmuştur.

Tablo 2. Deney grupları ve protokollerin özeti

Grup Adı		Uygulanan Madde							Sayı (n)
		Zimosan	DMSO	SF	Opiorfin	NA	Prazosin	Uygulama yolu	
Kontrol	SF	-	-	+	-	-	-	i.p	6
	*Zimosan+ SF	+	-	+	-	-	-	i.p	6
	Zimosan+DMSO	+	+	-	-	-	-	i.p.	6
1	Zimosan + Opiorfin (0.3mg/kg)	+	-	+	+	-	-	i.p.	6
2	Zimosan + NA (1mg/kg)	+	-	+	-	+	-	i.p	6
3	Zimosan + NA (1mg/kg) + Opiorfin (0.3mg/kg)	+	-	+	+	+	-	i.p.	6
4	Zimosan + Prazosin (1mg/kg)	+	+	+	-	-	+	i.p	6
5	Zimosan + Prazosin (1mg/kg) + Opiorfin (0.3mg/kg)	+	+	+	+	-	+	i.p	6
6	Zimosan+ Opiorfin (0.1mg/kg)	+	-	+	+	-	-	i.p	6
7	Zimosan+ Opiorfin (0.3mg/kg)	+	-	+	+	-	-	i.pl	6

* *Zimosan* her bir sıçanın sağ arka ayağına 6 mg doz intraplantar olarak uygulandı.

DMSO: Dimetil sülfoksit; *SF*: Serum Fizyolojik; *NA*: Noradrenalin; *i.p*: İntraperitoneal; *i.pl*: İntraplantar

5.3. Kullanılan Ajanlar ve Uygulama Şekli

Deneylerde opiorfin (Sigma, St. Louis, ABD), norepinefrin (Sigma, St. Louis, ABD), prazosin hidroklorid (Sigma, St. Louis, ABD) ve zimosan A (Sigma, St. Louis, ABD) kullanıldı.

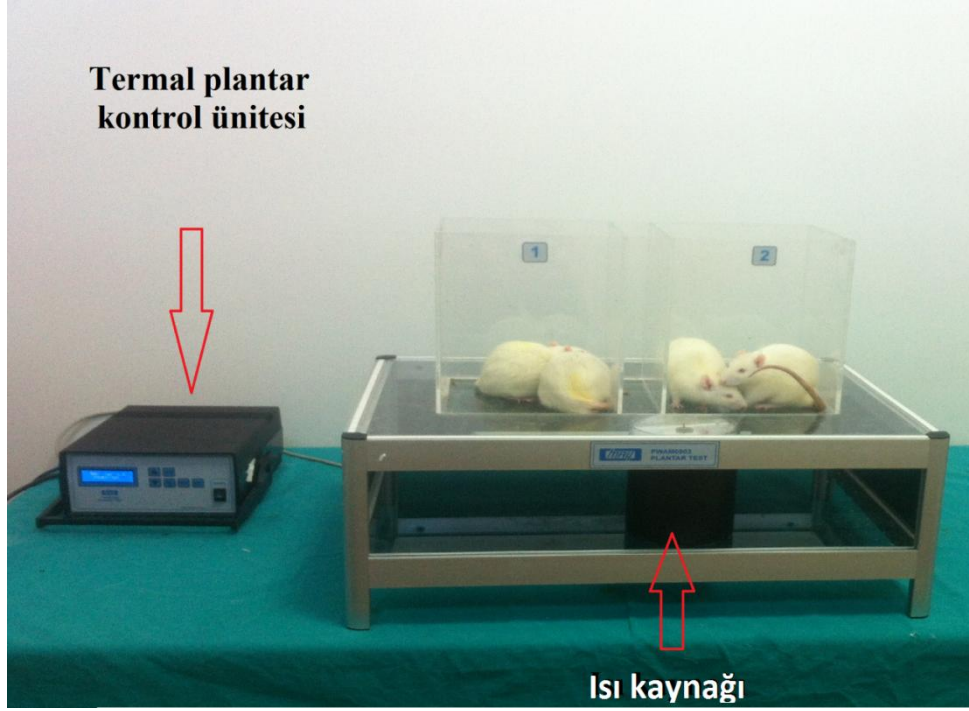
Çalışmada kullanılan zimosan; her bir sıçanın sağ arka ayağına intraplantar olarak ayak başına 6 mg olarak uygulandı. Bunun yanı sıra opiorfin 0.3 mg/kg doz uygulanmalarından bir tanesi intraplantar diğeri ise intraperitoneal olarak sıçanlara uygulandı. Prazosin dışında kullanılan bütün ajanlar % 0,9'luk NaCl içindeki çözeltilerde hazırlandı. Prazosin ise 0.2 ml enjeksiyon volümünün % 2'si olacak şekilde dimetil sülfoksit (DMSO)'te çözüldü ve serum fizyolojik (SF) ile 0.2 ml'ye tamamlanarak hazırlandı. Çalışmada kullanılan ajanlar, deney grupları, ilaç uygulama doz ve yöntemi Tablo 2'de ayrıntılı olarak yer almaktadır.

5.3.1. Zimosan

Zimosan, yüksek ısı ve tripsin muamelesi sonucu maya (*Saccharomyces cerevisiae*) hücrelerinin duvarlarından elde edilen bir karbonhidrattır (glukoz polimeri). Yaklaşık 50 yıldan beri kullanılan mikrobiyal partikül modelidir. İnflamasyon uyarımıyla içsel lökositlerinde rol aldığı immün yanıt sonucu sitokin ve kemokin üretimi olmaktadır. Yanıt süresinin diğer inflamatuvar ajanlara göre kısa olması ve kronik inflamatuvar modeline uygunluğu nedeniyle bu tez deney çalışmasında zimosan kullanılmıştır. Zimosan enjeksiyonu ile plantar alanda inflamasyon ve ödem oluşumu gözlenmiştir. Bunu takiben mekaniksel ve termal hiperaljezi, allodini oluşturmaktadır.



Şekil 3. Sıçan sağ arka ayağında zimosan ile tetiklenmiş inflamasyon ve ödem tablosu



Şekil 4. Termal plantar analjezimetre sistemi

5.4. Ağrı Eşiğinin In Vivo Plantar Analjezimetre Testinde Belirlenmesi

Bu protokol yanları plastik saydam bir bariyerle hayvanların dışarı çıkmaları engellenecek şekilde kapatılmış fakat hayvanların rahatça hareket edebileceği tabla bölümüne bırakılarak radyan ısının alttan uygulandığı ve hayvanın ısı uyarana vermiş olduğu cevap süresi ölçülerek ağrı eşiğinin tespitine yönelik bir termal akut ağrı modelidir (90, 91).

Çalışmada sıçanlar için uygun özellikteki Plantar Analjezimetre (MAY PWAM 0903 Plantar Test, Ankara, Türkiye) kullanılarak, sıçanların termal uyarıya bağlı pençe çekme süreleri (termal nosiseptif eşik) belirlendi. Bu amaçla, sıçanların arka ayak pençelerinin plantar yüzeylerinin ortasına odaklanan infrared ışık demeti şeklinde aşağıdan radyan ısı uygulandı (90). Bu düzenekte ön denemeler gerçekleştirilerek sağlıklı sıçanların radyan ısı uygulamasından pençelerini yaklaşık 5-10 sn sonra çekecekleri şiddete ayarlanacak ve doku zedelenmesini önlemek için “cut-off” süresi 10 saniye olarak belirlendi. Sıçanların pençelerini çektikleri anda ısı uygulaması otomatik olarak sonlanan bu test sisteminde “termal nosiseptif eşik” latansı saniye cinsinden

otomatik olarak hesaplayabilmekte ve ve otomatik olarak bilgisayara aktarılabilir.

Ağrı eşiği ölçümleri sabah 09-12 saatleri arasında gerçekleştirildi ve test esnasında ortamın sessizliğine özen gösterildi. Şekil 4’de gösterildiği gibi test düzeneğinin bir bölümüne en fazla 2 sıçan konularak deneyler yapıldı. Sıçan 10 sn içerisinde cevap vermediği takdirde doku hasarını önlemek amacıyla deney sistemin önceden ayarlanmış olarak ısıtmayı kesmesi (otomatik cut-off) sayesinde sonlandırıldı.

Deneylerden önce sıçanlara 1 hafta süreyle plantar analjezimetre testi uygulanarak, bütün hayvanların deney şartlarına alışmaları sağlandı. Deney hayvanları deney odasına ölçümlerden en az 15 dakika önce alınıp, deneyler hayvanların barındırıldığı odadan farklı bir ortamda gerçekleştirilmiştir. Bütün ölçümler aynı değerlendirici tarafından gerçekleştirildi. “Termal nosiseptif eşik” değerleri her bir sıçan için en az bir dakika arayla 2 defa ölçülerek ortalama değerler alındı.

İnflamatuvar ağrı tetiklemek için literatürde tarif edilen yöntem kullanıldı (15). Bu amaçla, sıçanların sağ arka ayak plantar yüzeyine subkutan olarak zimosan (6 mg/ayak tabanı) enjekte edildi. Enjeksiyon öncesi ağrı eşiği belirlendi (kontrol; dakika 0) ve ardından zimosan enjekte edilip ve zimosanla ağrı tetiklenmesinden 30 dakikada sonra tez konusu test ajanları opiorfin veya noradrenerjik modülatörler intraperitoneal (bazı protokoller için belirtildiği üzere intraplantar olarak) olarak uygulandı. Ağrı eşiği ölçümleri 15, 30, 40, 50, 60, 90, 120 ve 180 dakika sonra tekrarlandı. Test ajanlarının analjezik etkinliği aynı protokolde yer alan hayvanlar için 30. dakika değeri ile ve yine kontrol grubunun ilgili zaman noktaları ile kıyaslanarak belirlendi.

Intraperitoneal uygulamaların ve uygulamalarda kullanılan ajanları çözmek için kullanılan DMSO ve SF’in zimosan ile indüklenen termal nosiseptif eşik latensleri üzerine bir etkisinin olup olmadığını değerlendirmek için kontrol grubundaki hayvanlara intraperitoneal olarak 0.2 ml sadece SF, zimosan + SF ve DMSO konsantrasyonu 0.2 ml enjeksiyon völümünde % 2 olacak şekilde zimosan + DMSO + SF verildi ve ağrı eşiği ölçümleri 15, 30, 40, 50, 60, 90, 120 ve 180. dakikalarda alındı.

5.5. Veri Analizi ve İstatiksel Değerlendirme

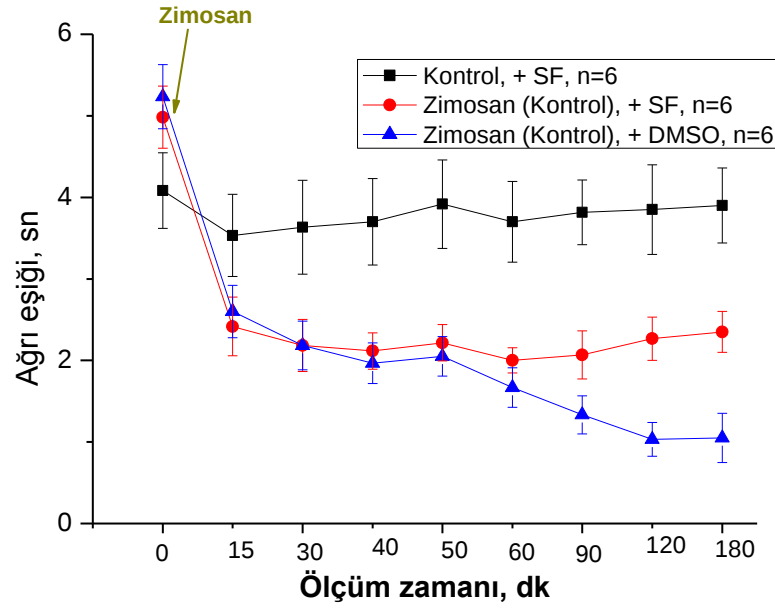
Deneyisel verilerin istatistiksel analizleri Microcal Origin (Versiyon 8, Northampton, ABD) veri analiz programı kullanılarak belirlendi. “Ağrı eşikleri” termal nosiseptif eşik latensleri üzerinden yapıldı. Veri analizinde, gruplar arasında fark olup olmadığını belirlemek için ilk olarak ANOVA testi kullanıldı. Ayrıca, bu farkın hangi gruplar arasında olduğunu belirlemek için post hoc Dunnet’s testi kullanıldı. P değeri, $p < 0.05$ için istatistiksel açıdan anlamlı kabul edildi.

6. BULGULAR

6.1. Zimosan Enjeksiyonuna Bağlı İnflamasyon ve Hiperaleji Gelişimi

İntraplantar zimosan enjeksiyonunu takiben bütün sıçanların ilgili ayak tabanlarında şiddetli inflamasyonu gösteren belirgin şişkinlik ve kızarıklık meydana geldi. Bahsedilen inflamasyon belirtileri hem aynı ayak için zimosan enjeksiyonu öncesi hem de enjeksiyon yapılmayan diğer ayaklara kıyasla gözlemlenebilecek şekilde fark edilebilir boyuttaydı (Şekil 3).

Bu deneysel inflamatuvar ağrı modeli için literatürde tarif edilen ayrıntıya uygun olarak zimosan enjeksiyonunu takiben 15. dakikada yapılan ağrı eşiği testlerinde de ağrı duyarlılığı artışının istatistiksel anlamlı düzeyde gerçekleştiği tespit edildi ($P<0.05$) (Şekil 5).



Şekil 5. Kontrol ve intraplantar zimosan uygulamasına bağlı ağrı duyarlılığı gelişimi ve çözücülerin DMSO, SF) ağrı duyarlılığına etkisi

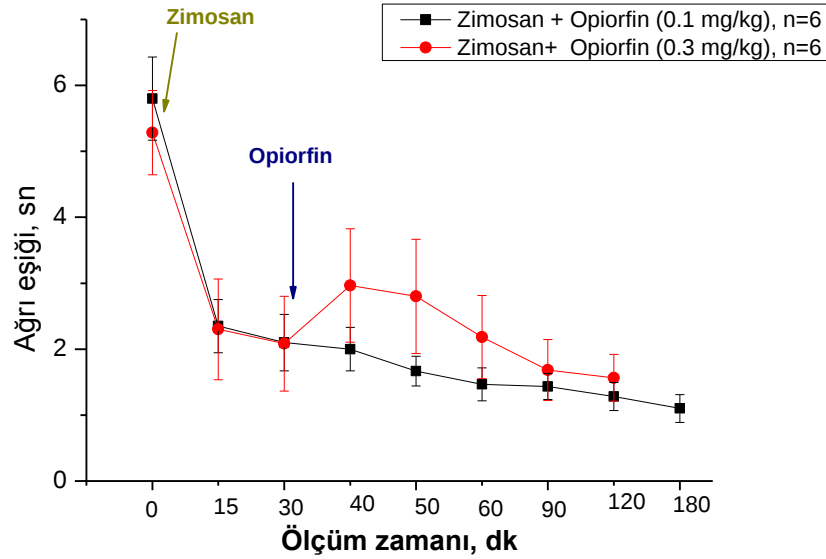
En üstte kontrol grubu için (sadece i.p SF uygulanan) tekrarlanan ağrı eşiği ölçümünün deney süresince ağrı duyarlılığı üzerine etkisi olup olmadığı irdelendi; tekrarlayan ölçümlerde ağrı duyarlılığında anlamlı değişiklik olmadığı saptandı. Zimosan uygulanan gruplarda ise çözücülerin (alttaki 2 trase) deney süresince ağrı duyarlılığı üzerine etkisi irdelendi. Bütün gruplarda 0. dakika intact hayvanlardan alınan ölçümü göstermektedir; hemen ardından çözücü gruplarına (alttaki iki trase) intraplantar zimosan uygulandı; bu gruplara DMSO veya SF 30. dakikadan hemen sonra uygulanmıştır. Kıyaslamalar 30. dakikaya göre yapılmıştır.

6.2. Kontrol Grubuna Çözücü Uygulamaları ve Ağrı Latens Değerleri Üzerine Etkileri

İntraperitoneal uygulamaların ve ilaçları çözmek için kullanılan DMSO ve SF'in zimosan ile indüklenen kronik inflamatuvar ağrı eşiği değerleri üzerine bir etkisinin olup olmadığını değerlendirmek için sıçanlara ilk olarak 0. dakikada ölçüm alındıktan sonra i.p olarak 0.2 ml SF uygulanmıştır. Zimosan ile indüklenmiş inflamatuvar ağrı grupları

için ise Zimosan + SF ve Zimosan + DMSO olan kontrol grupları da oluşturuldu. Bu grup uygulaması; 0. dakikada bazal ağrı eşiği ölçüldükten sonra zimosan enjekte edildi ve 30. dakikada ölçüm alınıp bir grupta SF enjeksiyonu diğer grupta ise DMSO enjeksiyonu yapılmıştır. Daha sonra 15, 30, 40, 50, 60, 90, 120 ve 180. dakikalarda termal plantar analjezimetre testinde latensleri ölçüldü.

Ajanları çözmek için kullanılan SF ve DMSO'nun zimosan ile indüklenen ağrı üzerinde test edilen ardışık ölçüm zamanlarında her ne kadar kısmi bir ağrı duyarlılığı gelişse de bunun anlamlı düzeyde bir etkiye sahip olmadığı saptandı (Şekil 5).



Şekil 6. Zimosan ile indüklenmiş inflamatuvar ağrıda tek doz sistemik opiorfin (0.1 ve 0.3 mg/kg) uygulamasının ağrı duyarlılığı üzerine etkisi.

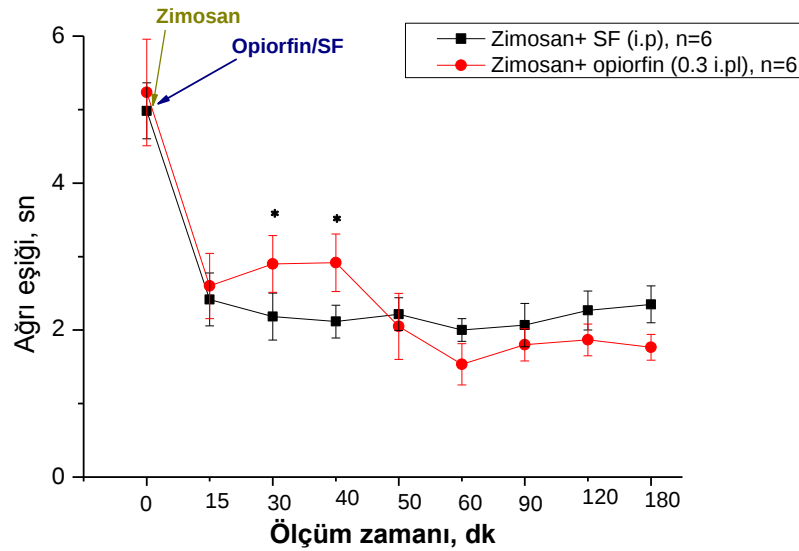
Zimosan ile ağrı tetiklemeyi takiben 30. dakika sonrası opiorfin uygulanmasından sonraki (40. dakika ve sonrası) ölçüm değerleri 30. dakika ile kıyaslanmıştır. Ajanlar şekil üzerinde belirtilen anda uygulanmıştır.

6.3. Zimosan ile İndüklenen Ağrı Latens Değerleri Üzerine Opiorfinin Etkileri

Zimosan ile indüklenmiş inflamatuvar ağrıda opiorfin 0.1 mg/kg, 0.3 mg/kg i.p uygulamaları ve 0.3 mg/kg intraplantar uygulanan grupların termal plantar analjezimetre testinde latensleri ölçüldü.

İlk olarak 0. dakikada alınan bazal ölçümden sonra zimosan enjeksiyonu intraplantar olarak yapılmış ve 15. dakikada ilk ölçüm alındı. Daha sonra 30. dakikada ölçüm alındıktan sonra opiorfin uygulandı.

Zimosan ile indüklenmiş inflamatuvar ağrıda opiorfin 0.1 mg/kg i.p ve opiorfin 0.3 mg/kg i.p uygulanan doz ile karşılaştırıldığında opiorfin 0.3 mg/kg dozu istatistiksel olarak anlamlı bir analjezi oluşturdu ($P<0.05$). Bu analjezik etki opiorfin 0.3 mg/kg i.p uygulanan ölçümde 40. ve 50. dakikalarda analjezik etki tespit edildi. Ayrıca zimosan ile indüklenen opiorfin 0.1 mg/kg i.p uygulanan grup da anlamlı düzeyde analjezik etki meydana getirmediği saptandı ($P>0.05$) (Şekil6).

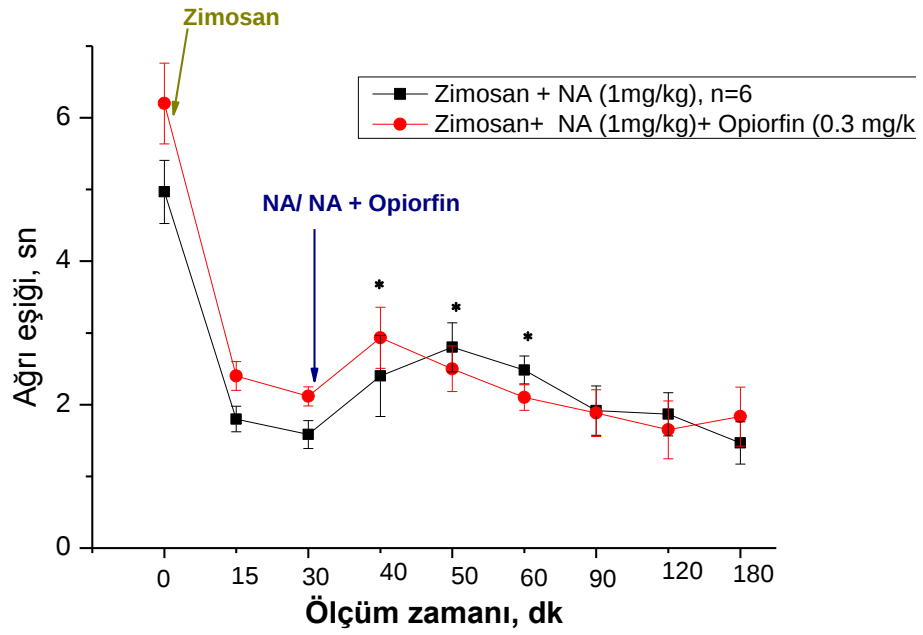


Şekil 7. Zimosan ile indüklenmiş inflamatuvar ağrıda tek doz intraplantar opiorfin (0.3 mg/kg) uygulamasının ve serum fizyolojinin ağrı duyarlılığı üzerine etkisi. Kontrol grubu olan zimosan + SF ile karşılaştırıldığında; 0. dakika sonrasında zimosan ile birlikte intraplantar uygulanan opiorfinin etkisi kontrol grubu ile karşılaştırıldığında 30 ve 40. dakikalarda istatistiksel olarak anlamlı düzeyde farklı bulundu. Ajanlar şekil üzerinde belirtilen anda uygulanmıştır. *: $p<0.05$

Zimosan ile indüklenmiş inflamatuvar ağrıda SF i.p uygulanan kontrol grubu ile opiorfin 0.3 intraplantar uygulanan grubu; zimosan ve opiorfin 0.3 mg/kg intraplantar

olarak 0.dakikada bazal ağrı eşiği alınıp daha sonra uygulanmış ve 15. dakikada ilk ölçüm alınmıştır.

Opiorfin 0.3 mg/kg intraplantar uygulanan ağrı latensinde ise 30 ve 40. dakikalar için anlamlı bir analjezik etki tespit edildi ($P<0.05$, Şekil 7).



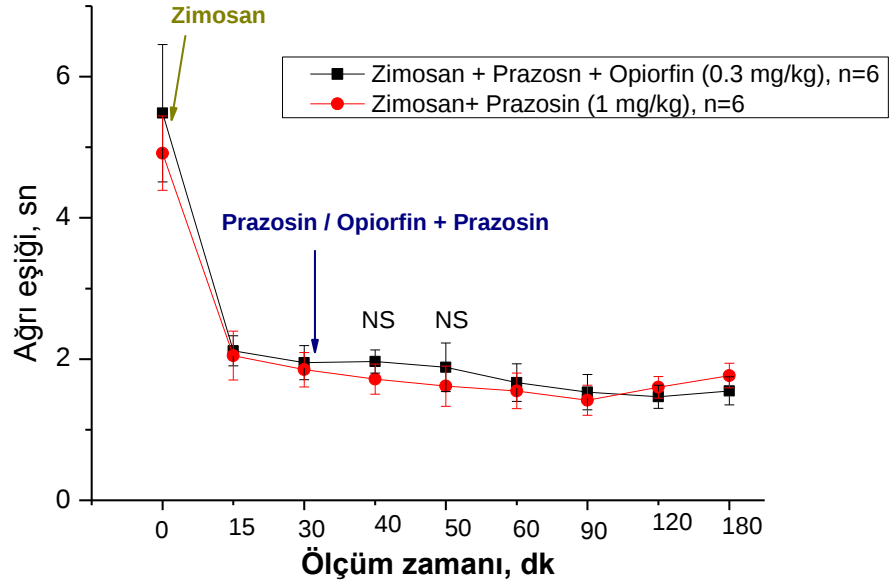
Şekil 8. Zimosan ile indüklenmiş inflamatuvar ağrıda NA (1 mg/kg) ve NA (1 mg/kg) + opiorfin (0.3 mg/kg, i.p) kombinasyonu uygulamalarının ağrı duyarlılığı üzerine etkisi.

*Zimosan ile tetiklenen ağrının 30. dakika değerleri ile test ajanlarının varlığında 40, 50 ve 60. dakika değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde fark saptandı ($p<0.05$). Ajanlar şekil üzerinde belirtilen anda uygulanmıştır. *: $p<0.05$*

6.4. Zimosan ile İndüklenen Ağrı Latens Değerleri Üzerine Noradrenalin ve Opiorfin + Noradrenalin Kombinasyonunun Etkileri

Zimosan ile indüklenmiş inflamatuvar ağrıda NA 1 mg/kg ve opiorfin 0.3 mg/kg + NA 1 mg/kg uygulandı ve termal plantar analjezimetre testinde ağrı latensleri değerlendirildi.

0. dakikadan sonra intraplantar olarak zimosan uygulanarak ağrı oluşturulmuş ve ilk olarak 15. dakikada ölçüm alındı. NA ve opiorfin ise 30. dakikada ölçüm alındıktan hemen sonra uygulandı. NA ve opiorfin + NA kombinasyon grubu karşılaştırıldığında NA'nın 40. dakikada analjezi meydana getirdiği, kombinasyon grubunun ise 40. ve 50. dakikalarda hala analjeziyi sağladığı fakat bu etkinin 30. dakikaya göre anlamlı olmadığı saptandı (Şekil 8).



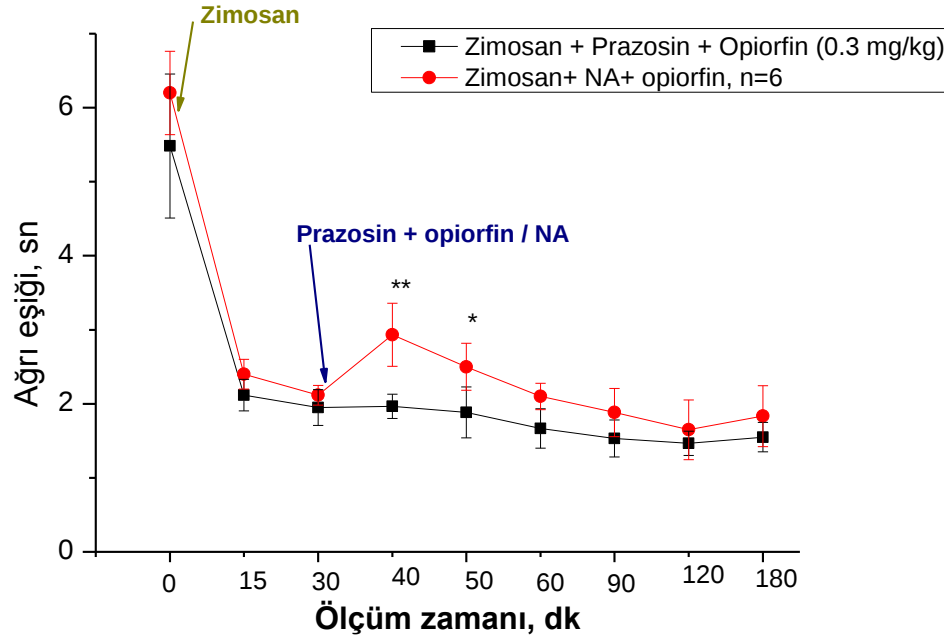
Şekil 9. Zimosan ile indüklenmiş inflamatuvar ağrıda prazosin (1mg/kg) ve prazosin (1 mg/kg) + opiorfin (0.3 mg/kg) i.p kombine uygulamalarının etkisi.

Zimosan ile tetiklenen ağrının 30. dakika değerleri ile test ajanlarının varlığında 40.ve 50. dakika değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde olmayan bir fark vardı. Ajanlar şekil üzerinde belirtilen anda uygulanmıştır. NS: $p > 0.05$

6.5. Zimosan ile İndüklenen ($\alpha 1$ antagonisti) Prazosin Uygulanan Grubun Opiorfin + Prazosin Kombinasyonu Uygulamalarının Ağrı Latens Değerleri Üzerine Etkileri

Zimosan ile indüklenmiş inflamatuvar ağrıda prazosin 1 mg/kg ve prazosin 1mg/kg + opiorfin 0.3 mg/kg uygulandı ve termal plantar analjezimetre testinde ağrı latensleri değerlendirildi. 0. dakikada bazal değerler alındıktan sonra zimosan intraplantar uygulanarak ağrı indüklendi ve ilk ölçüm 15. dakikada alındı. Daha sonra 30. dakika da ölçüm alındıktan sonra prazosin ve opiorfin uygulamaları yapıldı. Prazosin uygulanan her iki grupta da test edilen ardışık ölçüm zamanlarında anlamlı düzeyde azalma görüldü. 30. dakikadan sonra 60. dakikaya kadar ağrı duyarlılığı oluşturup latens değerlerinde azalmaya neden olduğu saptanmıştır.

Opiorfin ile kombine edilen prazosin grubunda ise prazosinin neden olduğu ağrı hassasiyet durumunu 30. dakikadan sonra ve 60. dakikaya kadar az da olsa arttırdığı tespit edildi (Şekil 9).



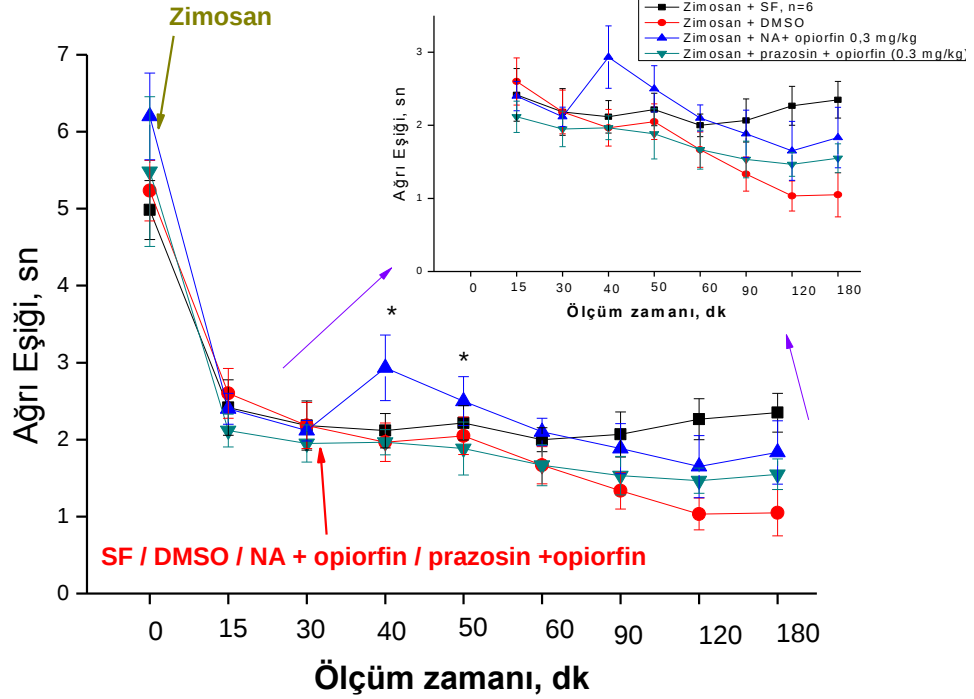
Şekil 10. Zimosan ile indüklenmiş inflamatuvar ağrıda prazosin (1 mg/kg) + opiorfin (0.3 mg/kg) ile NA (1 mg/kg) + opiorfin (0.3 mg/kg) uygulamalarının etkisi.

*Zimosan ile tetiklenen ağrının 30. dakika değerleri ile test ajanlarının varlığında 40 ve 50. dakika değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde fark saptandı ($p < 0.05$). Ajanlar şekil üzerinde belirtilen anda uygulanmıştır. *: $p < 0.05$; ** $p < 0.01$*

6.6. Zimosan ile İndüklenen Prazosin+Opiorfin Kombinasyonu ile NA+ Opiorfin Kombinasyonu Uygulamalarının Ağrı Latens Değerleri Üzerine Etkileri

Zimosan ile indüklenmiş inflamatuvar ağrıda prazosin 1 mg/kg + opiorfin 0.3 mg/kg ve NA 1 mg/kg + opiorfin 0.3 mg/kg uygulandı. 0. dakikada bazal ağrı eşiği alındıktan sonra zimosan intraplantar olarak uygulandı ve ilk ölçüm 15. dakikada alındı. 30. dakikada ölçüm alındıktan sonra prazosin, NA ve opiorfin uygulamaları yapıldı.

NA'nın opiorfin ile kombinasyonunda 40., 50. ve 60. dakikalarda anlamlı düzeyde bir analjezi saptandı ($P<0.05$). Prazosinin opiorfinle kombinasyonu, NA'nın opiorfinle kombinasyonu ile karşılaştırıldığında prazosin kombinasyon grubunun ağrı latensinde düşüş tespit edildi (Şekil 10).



Şekil 11. Zimosan ile indüklenmiş inflamatuvar ağrıda prazosin + opiorfin (0.3 mg/kg) kombinasyonu ile NA + opiorfin (0.3 mg/kg) kombinasyonu ve çözücü (SF ve DMSO i.p) uygulamalarının etkilerinin birlikte değerlendirilmesi.

Zimosan + SF ile NA + opiorfin ve zimosan +DMSO ile prazosin +opiorfin grubu karşılaştırıldığında;30. dakika sonrasında test ajanlarının varlığında opiorfin kombinasyon gruplarının etkisi kontrol grubu ile karşılaştırıldığında 40. ve 50. dakikalarda istatistiksel olarak anlamlı düzeyde farklı saptandı ($P<0.05$). Ajanlar şekil üzerinde belirtilen anda uygulanmıştır.

Zimosan ile indüklenmiş inflamatuvar ağrıda prazosin 1 mg/kg + opiorfin 0.3 mg/kg, NA 1 mg/kg + opiorfin 0.3 mg/kg, SF, DMSO uygulandı. 0. dakikada bazal ağrı eşiği alındıktan sonra zimosan intraplantar olarak uygulandı ve ilk ölçüm 15.dakikada alındı. 30. dakikada ölçüm alındıktan sonra prazosin, NA, SF ve DMSO uygulamaları yapıldı. NA çözücüsü SF, prazosin çözücüsü DMSO ile karşılaştırıldı. SF ile NA opiorfin kombinasyonunda kontrol grubuna göre 40. ve 50. dakikalarda anlamlı

düzeyde bir analjezi saptandı ($P<0.05$). DMSO ile prazosin + opiorfin kombinasyonu karşılaştırıldığında ise 40. dakikadan sonra prazosin kombinasyonu ağrı eşiği değerlerinde azalma tespit edildi (Şekil 11).

7. TARTIŞMA VE SONUÇ

Ağrı duyusu, vücutta homeostazisi tehdit eden herhangi bir zararlı uyarı veya bir rahatsızlığı beyine ileterek “sağlıklı duruma” katkıda bulunan bir biyolojik sinyal olmasına rağmen, kronik ağrı bireyin günlük yaşam kalitesini önemli ölçüde etkileyen, hasta ve toplum açısından çok büyük ekonomik ve sosyal olumsuz etkileri olan bir sağlık problemidir. Toplumda hemen herkesi yaşamının bir döneminde etkileyen ağrı için tatminkâr düzeyde etkili ve güvenli bir tedavi henüz geliştirilememiştir (3). Bireyler arasında ve aynı bireyde farklı koşullarda değişik ağrı duyarlılığı gösterebilme durumu ağrı duyusunun endojen faktörlerle modüle olduğu şüphesi ve ardından bu modülasyonun mekanizmalarının en azından bir kısmının keşfine yol açmış ve son yıllarda daha etkin, daha güvenli bir analjezi için endojen analjezik sistemin etkinliğinin korunması ve/veya güçlendirilmesi hedef alınmaktadır. Bu bağlamda “fizyolojik tip analjezi” sağlamak üzere “endojen endorfinlerin” biyoyararlanımını (yıkımlanmalarının engellenmesi) artırmak yoluyla ağrı dindirme yaklaşımı, hem akut hem de kronik ağrı sendromları için umut vaat eden yeni bir yaklaşımdır (32).

Günümüzde ağrı kesici olarak kullanılan opioidlerin analjezik etkisi APN ve NEP ekto endopeptidazların hızlı inaktivasyonlarından dolayı kısa sürelidir ve birçok ciddi yan etkilere sahiptir. Bu tez kapsamında etkinliği test edilen ajanlardan olan opiorfin, opioid agonistlerine benzer potansiyel analjezik etkiye ve daha az yan etkiye sahip olması, kimyasal optimizasyonu, doğal fizyolojik yapısı nedeniyle potansiyel analjeziklerdir. Kronik ağrı modelinde yapılan formalin ile indüklenmiş davranışsal ağrı çalışmasında, kimyasal olarak indüklenmiş inflamatuvar nosisepsiyonda davranışsal ağrı cevabı incelenmiştir (92). Lokal seviyedeki endojen enkefalinler, zararlı uyarana cevaben salıverilen opiorfin degradasyonunun endojen opioidlerin yıkımının önlenmesinde rol aldığı kanıtlanmıştır (92). Ayrıca, yapılan çalışmalarda, kimyasal ajan ile indüklenmiş inflamatuvar ağrıda opiorfinin sistemik uygulanması sonucu analjezik cevabın ortaya çıkması endojen μ -opiorfin reseptörlerinin aktivasyonu sonucu olduğunu göstermiştir (93).

Bu tez çalışmasının amacı endojen enkefalinlerin yıkımlanmasını inhibe edici bir etkiye sahip bir endojen peptit olan opiorfinin, zimosan ile indüklenmiş kronik inflamatuvar ağrı modelinde kendi etkisi ve analjezik etkinliğinin noradrenerjik sistemle olası etkileşimi irdelenmesi amaçlanmıştır. Bu kapsamda opiorfin, sempatik sistemin

nonspesifik agonisti noradrenalin ($\alpha 1$ ve $\alpha 2$ - agonisti) ve prazosin ($\alpha 1$ –antagonisti) kullanılarak termal plantar analjezimetre testi ile latens süreleri esas alınarak analjezik etkisi ve noradrenerjik mekanizma ve enkefalinerjik mekanizmalar arasında ağrı iletimi bağlamında olası etkileşimini incelemektir.

İnflamatuvar kronik ağrı oldukça kompleks ve birçok mekanizmanın yer aldığı bir ağrıdır. Buna bağlı olarak çalışmada kullanılan NE, hiperaljezi ve termal stimülasyonu inhibe edici selektif özelliğe sahiptir. Kronik ağrı ve hiperaljezi durumlarında NE seviyesi artmaktadır (5). NE'nin, spinal kordda antinosiseptif inen yollardan salınımı ile primer afferent liflerin terminalinde bulunan $\alpha 1a$ - adreno reseptörleri üzerinden inhibitör etki ile (presinaptik inhibisyon) , doğrudan ağrıyı ileten nöronlar üzerinde $\alpha 2$ – adreno reseptörleri etkiyle (postsinaptik inhibisyon) ve $\alpha 1$ - adreno reseptörleri vasıtası ile inhibitör internöronların aktivasyonu ile ağrı baskılanmaktadır. Yapılan çalışmalarda inflamatuvar ağrı durumlarında, spinal $\alpha 2$ – adreno reseptörlerin sayısı arttığı tespit edilmiştir. Bu değişiklikler inflamatuvar ağrının yer aldığı durumlarda sistemik veya spinal olarak uygulanan NE'nin antinosiseptif potansiyelin gelişimine katkıda bulunduğunu göstermiştir (94).

Mevcut tez kapsamında enjeksiyondan önce 0. dakika ağrı eşiği ölçülerek kontrol grubu için SF, Zimosan + SF, Zimosan + DMSO gruplarında termal plantar analjezimetre cihazı ile 0. dakikada bazal ağrı eşiği ölçülmüştür. Zimosan + SF ve Zimosan + DMSO grubunda; 0. dakikada bazal ağrı eşiği alındıktan hemen sonra zimosan, 30. dakikada ölçüm alındıktan hemen sonra ise SF verilmiştir. Tüm grupların 15, 30, 40, 50, 60, 90, 120 ve 180. dakikalarda ağrı eşiği ölçülmüştür. Ajanları çözmek için kullanılan SF ve DMSO'nun zimosan ile indüklenen ağrı üzerinde test edilen ardışık ölçüm zamanlarında her ne kadar kısmi bir ağrı duyarlılığı gelişse de bunun anlamlı düzeyde bir etkiye sahip olmadığı tespit edildi (Şekil 5). Böylece, kullanılan model için daha önce tarif edilen ağrı gelişim profiline uygun olarak, toplam ölçüm zamanı olan 180 dakika için nispeten sabit ve kararlı bir ağrı duyarlılığı verisi elde edilmiştir.

Mevcut tez çalışmasında zimosan ile tetiklenmiş inflamatuvar ağrıda opiorfin düşük dozda (0.1 mg/kg, i.p.) etkisiz olurken, test edilen yüksek dozda (0.3 mg/kg, i.p.) kullanılan dozda kendi uygulanma periyodu öncesine kıyasla anlamlı bir analjezik etki sağladı (Şekil 6). Bu bulgu, etkinin kısa süreli ve doza bağımlı olması yönüyle literatür

ve laboratuvar verileriyle uyumludur (95, 96). Wisner ve arkadaşları tarafından sıçanlarda yapılan deneysel çalışmada formalin ile tetiklenmiş ağrı modelinde opiorfinin (1mg/kg i.v.) kimyasal uyarının tetiklediği akut ve kronik ağrı duyusunu engellediği tespit bildirilmiştir (95). Yine mevcut laboratuvarda farelerde diyabetik nöropatik modelinde opiorfinin doza bağımlı analjezik etkinlik gösterdiği ve bu etkinin kısmen de olsa noradrenerjik sistemle etkileşim özelliğinde olduğu bildirilmiştir (96).

Mevcut tez çalışmasında (hayvanların yaralı, ağrılı bölgeyi yalama, tükürme davranışından esinlenerek) opiorfinin lokal uygulaması da test edildi. Opiorfinin intraplantar enjeksiyonu sonucunda sistemik uygulamaya göre daha erken başlayan ve daha güçlü etkili ağrı dindirici etkinliği olduğu tespit edildi (Şekil 7). Bu protokolda sadece tek doz denenmiş olması ve noradrenerjik sistemle etkileşimin bu protokolda test edilmemiş olması tez çalışmasının kısıtlamaları arasında yer almasına rağmen; son bahsedilen etki opiorfinin sistemik (ve muhtemelen santral) etkisi yanında lokal (ve periferik) etkiye sahip olduğunu da ortaya koymaktadır. Lokal uygulandığında güçlü bir analjezik etki gösterdiği bulgusu bu ajanın inflamatuvar ağrıda lokal uygulanan preparatların yapısına girme potansiyeli olduğunu da göstermektedir.

Sistemik uygulanan opiorfin ile kısa süre devam eden anlamlı analjezi elde edildi (sadece 0.3 mg/kg opiorfin için), benzer etki noradrenalin uygulaması ile de sağlandı ve bu sonuncu etki sempatik antagonist kullanımı ile önlenebildi. Noradrenalin ile opiorfin kombinasyonu erken safhada her birinin tek uygulanmasına kıyasla daha güçlü (istatistiksel anlamlı düzeyde) bir analjezi sağlasa da bu güçlenmiş etki tipik bir sinerjik olarak kısıtlı düzeyde kalmıştır.

Yapılan çalışmalar sonucunda kontrol şartlarındaki ağrı duyarlılığı zimosan uygulamasından sonra NA 1 mg/kg veya hem NA 1 mg/kg + opiorfin 0.3 mg/kg ile kombine edildiğinde net olarak ağrı duyarlılığında geçici bir iyileşme sağladığı görülmüştür. Bu iyileşme, NA ve opiorfin enjeksiyon öncesi olan 30. dakika ile kıyaslandığında 40. ve 50. dakikalarda anlamlı şekilde ağrı dindirici etki görülmüştür. Bu analjezik etki hiçbir zaman kontrol değerlerine (inflamasyon tetiklenme öncesi) geri getirememiştir ama zimosanla yerleşik ağrıyı kısmen de olsa hafiflettiği tespit edildi. Fakat hem opiorfinin hem NA etkisi yaklaşık 20 dakika sürdüğü gözlemlenmiştir ve 30. dakika sonrasında ağrı duyarlılığı tekrar kontrol de olduğu gibi devam etmiştir. Ancak NA etkisinin opiorfinin NA ile oluşturduğu kombinasyon grup değerlendirilmesinde

kombinasyon grubunun ilk uygulamadan sonra ilk 10 dakikasında pik yapması NA ile opiorfinin birlikte daha güçlü analjezi sağladığı görülmüştür ve kombinasyon grubunun bu etkisi 50. dakikadan sonra düşmüştür. Burada asıl etkili olan faktör NA yarı ömrüne bağlı olduğunu göstermiştir. Ayrıca NA uygulamasına göre kombinasyon grubu daha az sürede etki gösterdiği görülmüştür (Şekil 8).

Antihipertansif olarak klinikte kullanım potansiyeli olan α_1 -adrenoseptör antagonisti prazosin kullanılarak zimosanla tetiklenmiş inflamatuvar ağrıda noradrenerjik sistemin ve bu sistemin opiorfinle irdelenen endojen enkefalinlerjik sistemle olası etkileşimi irdelenmeye çalışıldı. Tek başına uygulandığında ağrı duyarlılığında belirgin etkisi olmayan prazosin, opiorfinin analjezik etkisini inhibe ettiği tespit edildi (Şekil 9). Zimosan ile indüklenmiş kronik inflamatuvar ağrı modelinde nonspesifik sempatik agonist noradrenalin (α_1 ve α_2 - agonisti) 1 mg/kg ve prazosin (α_1 –antagonisti) 1 mg/kg'ın opiorfin 0.3 mg/kg ile kombinasyonları karşılaştırıldığında prazosinin ağrı duyarlılığına neden olması opiorfinin etkisini büyük oranda azaltıp hiperalejiye neden olması ve NA'nın opiorfinle gösterdiği analjezik etkinin ortaya çıktığını göstermiştir (Şekil 10). Bu iki zimosan ile tetiklenmiş kombinasyon grupları, NA çözücüsü olan SF'in (zimosan + SF grubu) ve prazosinin çözücüsü olan DMSO (zimosan + DMSO grubu) ile karşılaştırıldığında kontrol gruplarına farkla daha önce belirtilen etki belirgindir (Şekil 11).

Mevcut tez çalışması deneysel kronik inflamatuvar ağrı modelinde enkefalinlerin yıkımını engelleyerek biyoyararlanımlarını arttırmak ve santral düzeyde inisiy ağrı dindirici mekanizmalardan noradrenerjik mekanizma ile aralarındaki muhtemel ilişkiyi irdelenmek bu çalışmanın özgün yönüdür. Çalışma sonuçları klinik kullanıma yönelik deneysel veri ortaya koyma kapasitesindedir. Ancak ilgili mekanizmanın ilave protokollerle irdelenmesine gerek vardır.

Endojen enkefalinlerjik, noradrenerjik ve serotonerjik ağrı dindirici mekanizmalar mevcut olup; bu mekanizmaların betaendorfinler, CGRP gibi mediyatörleri keşfedilmiştir. Yakın geçmişte tükürükte bulunan güçlü bir analjezik peptidin endojen enkefalinleri yıkımlayarak analjezi sağladığı tespit edilmiş ve bu ajana opiorfin adı verilmiştir (6,8). Bu tez çalışmasında opiorfinin inflamatuvar ağrı modelinde etkisi irdelenmiş ve bu etkinliğinde noradrenerjik mekanizmalarla olası etkileşimi test edilmiştir.

Sonuç ve öneriler;

- 1- Opiorfin inflamatuvar ağrıda doza bağımlı bir analjezik etkinlik göstermektedir. Bu etki hem akut hem de model özelliğine dayanarak kronik inflamatuvar ağrıya karşı uygulanabilir niteliktedir.
- 2- Opiorfinin lokal uygulaması da inflamatuvar ağrıda benzer etkinliğe sahiptir. Bu bulgu, opiorfinin periferik mekanizma ile de ağrı dindirici potansiyele sahip olduğunu ortaya koymaktadır.
- 3- Opiorfinin santral uygulandığında sağladığı etki, noradrenerjik mekanizma ile düşük düzeyde de olsa sinerjistik bir etkileşim arz etmektedir.
- 4- Vücutta etkileşime yol açma potansiyeli ve opiorfinin büyük molekül olması dikkate alındığında santral etkisinin ayrıntılı olarak ortaya konması gerekirken, periferik etkinliğinin bulunması opiorfinin (doğal ya da sentetik analoglarının) daha kolay irdelenebilecek testler sonucunda lokal uygulanacak analjezik pomatların bileşimine girme potansiyeli olduğunu ortaya koymaktadır.
- 5- Opiorfinin etkisi kısa süreli ve geri dönüşümlüdür. Bir yönüyle kısıtlama olmakla birlikte bu etki profili klasik farmakolojik bir ajan özelliği ile uyumludur. Etkinin kısa süreli olması opiorfinin yarılanma ömrüyle ilişkilidir. Deneysel model olan kronik ağrının çok güçlü bir inflamasyona neden olması, opiorfinin tespit edilen analjezik etkinliğinin kısıtlı kalmasına katkısı da dikkate alınması gereken bir başka husustur.
- 6- Bu tez çalışmasından elde edilen bulgular yorumlanırken belirli kısıtlamaların mutlaka dikkate alınması gerektiği vurgulanmalıdır;
 - Deney gruplarında denek sayısı 6 ile sınırlıdır ve istatistik değerlendirme sonuçları bu sayının artırılması gerektiğini ortaya koymaktadır
 - Opiorfinin en az bir başka daha yüksek dozunun (>0.5 mg/kg) da denenmesi tez sonuçlarını güçlendirebilir
 - Sempatik sistem ile etkileşimi ayrıca alfa-1, alfa-2 ve nonspesifik antagonistlerle birlikte opiorfinin farklı kombinasyonlarının da denenmemiş olması mevcut protokollerin kısıtlılıkları arasındadır.

- Endojen ağrı dindirici diğer endojen mekanizmalarla (serotonerjik...) olası etkileşim de, mümkün olan en güçlü analjezik potansiyeli elde etme arayışı yönüyle irdelenmeye değer protokoller arasında sayılabilir.

8. KAYNAKLAR

1. International Association for the study of pain: <http://www.iasp-pain.org> (*erişim Kasım, 2013*).
2. Zimmermann M (2001). Pathobiology of neuropathic pain. *Eur J Pharmacol* 429: 23-37.
3. Merskey H (1994). Classification of chronic pain. Bogduk (eds): 2nd ed. IASP Task Force on Taxonomy IASP Press, Seattle.
4. Gonzales VA, Martelli MF, Baker JM (2000). Psychological assessment of persons with chronic pain. *NeuroRehabilitation* 14: 69-83.
5. Xiechuan W, Trevor S, Jean S, Laiche D (2012). Chronic inflammatory pain is associated with increased excitability and hyperpolarization-activated current (I_h) in C- but not Ad-nociceptors. *Pain* 153: 900-914.
6. Rougeot C, Robert F, Menz L, Bisson JF, Messaoudi M (2010). Systemically active human opiorphin is a potent yet non-addictive analgesic without drug tolerance effects. *J Physiol Pharmacol* 61: 483-490.
7. Ganong WF (2002). *Tıbbi Fizyoloji*. 20. baskı. İstanbul: Nobel.
8. Javelot J, Messaoudi M, Garnier S, Rougeot C (2010). Human opiorphin is a naturally occurring antidepressant acting selectively on enkephalin-dependent delta-opioid pathways. *J Physiol Pharmacol* 61: 355-362.
9. Antti P (2006). Noradrenergic pain modulation. *Prog Neurobiol* 80: 53-83.
10. Sullivan AF, Dashwood MR, Dickenson AH (1987). Alpha-2 adrenoceptor modulation of nociception in rat spinal cord: location, effects and interactions with morphine. *Eur J Pharmacol* 38: 169-177.
11. Kulmatycki KM, Jamali F (2007). Drug disease interactions: role of inflammatory mediators in pain and variability in analgesic drug response. *J Pharm Pharm Sci* 10: 554-566.
12. Kidd BL, Urban LA (2001). Mechanisms of inflammatory pain. *Br J Anaesth* 87:3-11.
13. Eisenhut M, Wallace H (2011). Ion channels in inflammation. *Pflugers Arch* 461: 401-21.

14. Boyce-Rustay JM, Honore P, Jarvis MF (2010). Animal models of acute and chronic inflammatory and nociceptive pain. *Methods Mol Biol* 617: 41-55.
15. Zhang RX, Ren K (2010). Animal models of inflammatory pain, *Animal Models of Pain*, Chapter 2. Springer 49: 23-40. DOI: 10.1007/978-1-60761-880-5_2.
16. Cash JL, White GE, Greaves DR (2009). Zymosan-induced peritonitis as a simple experimental system for the study of inflammation (Chapter 17). *Methods Enzymol* 461: 379-96.
17. Gangadharan V, Kuner R (2013). Pain hypersensitivity mechanisms at a glance. *Dis Model Mech* 6: 889-895.
18. Ossipov MH (2012). The perception and endogenous modulation of pain. *Scientifica (Cairo)* 2012:561761, <http://dx.doi.org/10.6064/2012/561761>.
19. Stearn TA (2010). *Massachusetts General Hospital Handbook of General Hospital Psychiatry* (6th Ed.). Elsevier Inc. ISBN: 978-1-4377-1927-7.
20. Tollison CD, Satterthwaite JR, Tollison JW (2002). *Practical Pain Management* (3rd Ed.). Lippincott Williams & Wilkins, Maple Press, Philadelphia, USA.
21. Livingston WK (1998). *Pain and Suffering*. Seattle: IASP Press.
22. Livingston WK (1943). *Pain Mechanisms*. New York: Macmillan.
23. Noordenbos W (1959). *Pain*. Elsevier, Amsterdam: 1-182.
24. Melzack R, Katz J (2013). *Pain*. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Cognitive Science* 4: 1–15.
25. Yilmaz A, Ergin S (2006). Pain: peripheral and central sensitization. *J Rheumatol* 21: 105-110.
26. Ma C, Zhang J (2011). *Animal Models of Pain*. Springer Science+Business Media, ISBN: 978-1-60761-879-9.
27. Tjolsen A, Berge OG, Hunskaar S, Rosland JH, Hole K (1992). The formalin test: an evaluation of the method. *Pain* 51: 5-17.
28. Yaksh TL (1999). Central Pharmacology of Nociceptive Transmission. In: Wall PD, Melzack R (Eds). *Textbook of pain*. 4th ed. Hong Kong: Churchill Livingstone; 253-308.
29. Erdine S (2000). *Ağrı Mekanizmaları, Ağrı* (Erdine S Ed). Nobel Tıp Kitabevi, İstanbul.

30. Jones SS (1992). Anatomy of Pain, Acute Pain Mechanisms and Management, In: Sinatra RS, Hord AL, Ginsberg B, Pereble LM (eds). St.Louis, Missouri: Mosby Inc.
31. Raj PP (2000). Ağrı Taksonomisi. In: Erdine S, editor. Ağrı. İstanbul: Nobel Tıp Kitapevi.
32. Marcus DA (2005). Chronic Pain: A Primary Care Guide to Practical Management 2nd ed., Humana Press, Totowa, NJ, USA, ISBN: 1-58829-501-X.
33. Türkoğlu M (1993). Ağrının tanımlanması ve ölçümü. Ağrı ve tedavisi. İbrahim Yegül (ed). İzmir: Yapım Matbaacılık: 19-99.
34. Erdine S (2003). Ağrı Sendromları ve Tedavisi, Genişletilmiş 2. Baskı, Gizben Matbaacılık, İstanbul, 1-7.
35. Lidbeck J, Hautkamp GIM, Ceder RA, Naslund ULO (1998). Classification of chronic pain at a multidisciplinary pain rehabilitation clinic. Pain Res Manag 3: 13-22.
36. Morgan GE, Mikhail MG (1996). Pain Management. In: Clinical Anesthesiology, 2 ed. New Jersey: Prentice-Hall International, Inc.: 274-316.
37. Berker E (2005). Nöropatik ağrı etyopatogenezi. J Int Med Sci 1: 37-40.
38. Bouncier M, Cavey D, Kail N, Hensby C (1990) Experimental models in skin pharmacology. Pharmacol Rev 42,127–154.
39. Bars DL, Gozariu M, Cadden SW (2001) Animal models of nociception. Pharmacol Rev 53, 597–652.
40. Zhang RX, Chen JY, Ruda MA, Qiao JT (1999). Functional relationship between peripheral inflammation, thermal hyperalgesia, and enhanced dynorphin gene expression in spinal cord of rat: behavioral and mRNA studies. Chin J Neuroanat 15: 19–26.
41. Lao L, Zhang RX, Zhang G, Wang X, Berman BM, Ren K (2004). A parametric study of electroacupuncture on persistent hyperalgesia and fos protein expression in rats. Brain Res 1020: 18–29.
42. Necas J, Bartosikova L (2013). Carrageenan: a review. Vet Med 58: 187–205.
43. Fecho K, Nackley AG, Wu Y, Maixner W (2005). Basal and carrageenaninduced pain behavior in sprague-dawley, lewis and fischer rats. Physiol Behav 85: 177–186.

44. Bautista DM, Jordt SE, Nikai T, Tsuruda PR, Read AJ, Poblete J, Yamoah EN, Basbaum AI, and Julius D (2006). TRPA1 Mediates the inflammatory actions of environmental irritants and proalgesic agents. *Cell* 124: 1269–1282.
45. Puig S, Sorkin LS (1996). Formalin evoked activity in identified primary afferent fibers: systemic lidocaine suppresses phase-2 activity. *Pain* 64: 345–355.
46. Chen J, Luo C, Li HL, Chen HS (1999). Primary hyperalgesia to mechanical and heat stimuli following subcutaneous bee venom injection into the plantar surface of hindpaw in the conscious rat: a comparative study with the formalin test. *Pain* 83: 67–76.
47. Institute for Laboratory Animal Research (2001). The National Academics, 5th Street NW, Washington. (<http://nas-sites.org/ilarjournal/>)
48. Perl ER (2007). Ideas about pain, a historical view. *Nat Neurosci* 8: 71-80.
49. Behar M, Olshwang D, Magora F, Davidson JT (1979). Epidural morphine in the treatment of pain. *Lancet* 1: 527-9.
50. Max MB (2002). Clarifying the definition of neuropathic pain. *Pain* 96: 406-7.
51. Yücel A (1997). Akut ağrı nörofizyolojisi. Hasta kontrollü analjezi (PCA). İstanbul: MER Matbaacılık ve Yayıncılık; 5-19.
52. Ertekin C (1993). Ağrının nöroanatomi ve nörofizyolojisi. Ağrı ve tedavisi. İbrahim Yegül (ed). İzmir: Yapım Matbaacılık: 1-18.
53. Heavner JE, Willis WD (2000). Pain pathways: Anatomy and Physiology. In: Raj PP (ed). *Practical Management of Pain*, 3 ed. St Louis: Mosby Inc.
54. Koob GF (1992). Drugs of abuse: anatomy, pharmacology and function of reward pathways. *Trends Pharmacol Sci* 13: 177-184.
55. Dost T, Dökmeci D, Akpolat M, Karadağ ÇH, Ulugöl A (2000). Farelerde morfinin oluşturduğu analjezik etkide santral histaminerjik sistemin rolü. *T.Ü. Tıp Fak Derg* 17: 141-7.
56. Budai D (2000). Neurotransmitters and receptors in the dorsal horn of the spinal cord. *Acta Biol Szeged* 44: 21-38.
57. Raj PP (1992). *Practical Management of Pain*. 2nd Edition, N. Engl. J. Med., ISBN: 0-8151-7012-2.

58. Bajic D, Proudfit HK (1999). Projections of neurons in the periaqueductal gray to pontine and medullary catecholamine cell groups involved in the modulation of nociception. *J Comp Neurol* 405: 359-379.
59. Stone LS, MacMillian LB, Kitto KF, Limbird LE, Wilcox GL (1997). The α_2 adrenergic receptor subtype mediates spinal analgesia evoked by α_2 agonists and is necessary for spinal adrenergic-opioid synergy. *J Neurosci* 17: 7157-7165.
60. Sagen J, Winker MA, Proudfit HK (1983). Hypoalgesia induced by the local injection of phentolamine in the nucleus raphe magnus; blockade by depletion of spinal cord monoamines. *Pain* 16: 253-263.
61. Wiesenfeld-Hallin, Z (1987). Intrathecal noradrenaline has a dose-dependent inhibitory or facilitatory effect on the flexion reflex in the rat. *Acta Physiol Scand* 130: 507-11.
62. Lynn RB (1992). Mechanisms of esophageal pain. *Am J Med* 92:11-19.
63. Morgan GE, Mikhail MG (1996). Pain Management. In: *Clinical Anesthesiology*, 2nd Ed. New Jersey: Prentice-Hall International, Inc.
64. Mense S (1983). Basic neurobiologic mechanisms of pain and analgesia. *Am J Med* 75: 4-14.
65. Willis WD, Westlund KN (1997). Neuroanatomy of the pain system that modulate pain. *J Clin Neurophysiol* 14: 2-31.
66. Millan MJ (1999). The induction of pain: an integrative review. *Prog Neurobiol* 57: 1-164.
67. Aitkenhead AR, Rowbotham DJ, Smith G (2001). *Textbook of Anaesthesia*. 4th edition. Churchill Livingstone, Edinburgh.
68. Purves D, Augustine GJ, Fitzpatrick D, Katz LC, LaMantia AS, McNamara JO, Williams SM (2001). *Neuroscience*. 2nd edition, Sunderland (MA): Sinauer Associates, ISBN-10: 0-87893-742-0.
69. Mendoza JE (2011). Encyclopedia of Clinical Neuropsychology. In: Kreutzer J, DeLuca, J, Caplan, B (eds). Springer, ISBN 978-0-387-79947-6.
70. Eun-Sang L, Seok-Won K (2004). Responses of lumbar spinomesencephalic tract neurons to antidromic activation of spinocervical tract neurons. *J Korean Neurosurg Soc* 36: 481-489.

71. Aydın ON (2002). Ağrı ve ağrı mekanizmalarına güncel bakış. ADÜ Tıp Fak Derg 31: 37 – 48.
72. Bernard JF (2001). Spinal cord and parabrachial circuits. J Physiol 536P, S292.
73. Xijing Z, Alex PG, Glenn J, Giesler Jr (2002). Responses of spinohypothalamic tract neurons in the thoracic spinal cord of rats to somatic stimuli and to graded distention of the bile duct. Somatosens Mot Res 19: 5-17.
74. Almeida TF, Roizenblatt S, Tufik S (2004). Afferent pain pathways: a neuroanatomical review. Brain Res 1000: 40-56.
75. Sorkin LS (1997). Basic pharmacology and physiology of acute pain processing. In: Wallace MS, Dunn JS, Yaksh TL (eds). Anesthesiology Clinics of North America. Philadelphia: W.B. Saunders Company: 235-50.
76. Hirshberg RM, Al-Chaer ED, Lawand NB, Westlund KN, Willis WD (1996). Is there a pathway in the posterior funiculus that signals visceral pain? 67: 291-305.
77. Pertovaara A, Almeida A (2006). Endogenous Pain Modulation, Chapter 13.
78. Cui M, Feng Y, Mcadoo DJ, Willis WD (1999). Periaqueductal gray stimulation-induced inhibition of nociceptive dorsal horn neurons in rats is associated with the release of norepinephrine, serotonin, and amino acids. J Pharmacol Exp Ther 289: 868-76.
79. Morgan GE, Mikhail MG (1994). Pain Management. In: Clinical Anesthesiology, 2 ed. New Jersey: Prentice-Hall International, Inc: 274-316.
80. Boyd DB (1989). Taxonomy and Classification of Pain. In Tollison CD, Ed. Handbook of Chronic Pain Management. Baltimore, William and Wilkins.
81. Pertovaara A. (2006). Noradrenergic pain modulation. Prog Neurobiol 80(2):53-83.
82. Hentall ID, Mesigil R, Pinzon A, Noga BR (2003). Temporal and spatial profiles of pontine-evoked monoamine release in the rat's spinal cord. J Neurophysiol 89: 2943-2951.
83. Jones SL, Gebhart GF (1986). Characterization of coeruleus inhibition of the noniceptive tail-flick reflex in rat: mediation by spinal α_2 adrenoreceptor. Brain Res 364: 315-330.

84. Sullivan AF, Dashwood MR, Dickenson AH (1987). α_2 adrenoceptor modulation of nociception in rat spinal cord: location, effects and interactions with morphine. *Eur J Pharmacol* 138: 169-177.
85. Omote K, Kitahata LM, Collins JG, Nakahatani K, Nakogawa I (1991). Interaction between opiate subtype and α_2 adrenergic agonists in suppression of noxiously evoked activity of WDR neurons in the spinal dorsal horn. *Anesthesiology* 74: 737-43.
86. Gürel A, Timlioğlu Ö (1996). Alfa-2 adrenerjik agonistlerin ağrı kontrolündeki yeri. *Türkiye Klinikleri J Med Sci* 16: 360-363.
87. Nakamura T, Tomida M, Yamamoto T, Ando H, Takamata T, Kondo E, Kurasawa I, Asanuma N (2013). The endogenous opioids related with antinociceptive effects induced by electrical stimulation into the amygdala. *Open Dent J* 7: 27-35.
88. Cabioğlu MT (2001). Akupunkturun endojen opioidler. *Genel Tıp Dergisi* 11: 161-167.
89. Rougeot C, Robert F, Menz L, Bisson JF, Messaoudi M (2010). Systemically active human opiorphin is a potent yet non-addictive analgesic without drug tolerance effects. *J Physiol Pharmacol* 61: 483-490.
90. Erdine S (2007). Ağrı mekanizmaları ve ağrıya genel yaklaşım. 3. baskı. Nobel Tıp Kitapevleri, İstanbul; 37-49.
91. Karanikolas M, Swarm RA (2000). Current trends in perioperative pain management. *Anesthesiol Clin North America* 18: 575-599.
92. Rougeot C, Robert F, Menz L, Bisson JF, Messaoudi M (2010). Systemically active human opiorphin is a potent yet non-addictive analgesic without drug tolerance effects. *J Physiol Pharmacol* 61: 483-490.
93. Matthes HW, Maldonado R, Simonin F, Valverde O, Slowe S, Kitchen I, Befort K, Dierich A, Le Meur M, Dollé P, Tzavara E, Hanoune J, Roques BP, Kieffer BL (1996). Loss of morphine-induced analgesia, reward effect and withdrawal symptoms in mice lacking the mu-opioid-receptor gene. *Nature* 383: 819-823
94. Antti P (2006). Noradrenergic pain modulation. *Prog Neurobiol* 80: 53-83.

95. Wisner A, Dufour E, Messaoudi M, Nejdi A, Marcel A, Ungeheuer MN (2006). Human opiorphin, a natural antinociceptive modulator of opioid-dependent pathways. *Proc Natl Acad Sci USA* 103: 17979-17984.
96. Gedikli Ö (2013). Ağrı modülasyonunda noradrenerjik sistem ile arasındaki olası etkileşimin deneysel akut ağrı modelinde incelenmesi. Karadeniz Teknik Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, yüksek lisans tezi.

9. ETİK KURUL ONAYI

TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ
YEREL ETİK KURUL
BAŞKANLIĞI



TECHNICAL UNIVERSITY
ANIMAL CARE AND ETHICS
COMMITTEE

Sayı: 261
Konu:

Tarih:23/06/2010

Sayın : Prof.Dr.Ahmet AYAR
Fizyoloji ABD.

“Periferal Nosisepsiyon ve Artmış Ağrı Duyarlılığı: Endojen Antinosispetif Nöropeptid (Enkefalin) Katabolizması İle Sempatik Sistem Arasındaki Olası Etkileşime Deneyssel Bir Yaklaşım” başlıklı 2010/7 protokol no’lu çalışması incelenmiş olup bilimsel ve etik yönden uygun olduğuna karar verilmiştir.

Bilgilerinize ve gereğini rica ederim.

Prof. Dr. Yavuz ÖZORAN
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Başkanı

Ek: 1 adet onay belgesi

10. ÖZGEÇMİŞ

1. GENEL

T.C. KİMLİK NO	: 57736480156
ADI SOYADI	: AYŞEGÜL KURT
DOĞUM TARİHİ ve YERİ	: 26/10/1987, TRABZON
TEL : 04622298868	GSM: 05058189611
E-POSTA : aysegulkurt87@gmail.com	FAKS : -

2. EĞİTİM (Son aldığınız dereceden / diplomadan başlayarak yazınız)

DERECE (*)	KURUM	YIL
Lisans	Karadeniz Teknik Üniversitesi /Fen Fakültesi/ Biyoloji bölümü	2011
Lise	Trabzon Anadolu Lisesi Süper (YDA)	2006
İlköğretim	100.Yıl İlköğretim Okulu	2002

(*) Diploma Türü (Lisans, Y.Lisans, vb.)

3. AKADEMİK ve MESLEKİ DENEYİM

GÖREV DÖNEMİ	ÜNVAN	ÜNİVERSİTE	BÖLÜM
-	-	-	-

4. ÇALIŞMA ALANLARI

Ağrı ve izole organ banyosu ile ilgili çalışmalar

5. YABANCI DİL

İngilizce

6. YAYIN BİLGİLERİ

Ayar A., Gedikli O., Kurt A., Sahan R., and Ozcan M. Investigation of Role of "Funny"(If) Current in Spontaneous and Agonist-Stimulated Contractions in Isolated Rat Myometrium. 37th Congress of the International Unions of Physiological Sciences (IUPS), Birmingham, UK, 21-26 July 2013.

7. SERTİFİKALAR

Deney Hayvanları Kullanım Sertifikası (*Karadeniz Teknik Üniversitesi- Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu-2013*)

TÜBİTAK Ekual ve Taylor&Francis Group 2012 Eğitim Semineri (*Karadeniz Teknik Üniversitesi- 14 Kasım 2012*)