

T.C.
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

**FARELERDE OLUŞTURULAN DENEYSEL NÖROPATİK AĞRIYA
KARŞI TRAMADOL VE AGMATİNİN ETKİLERİNDE NİTRERJİK
SİSTEMİN ROLÜ**

Soner METE

DOKTORA TEZİ

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Fazilet AKSU

ADANA – 2013

T.C.
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

**FARELERDE OLUŞTURULAN DENEYSEL NÖROPATİK AĞRIYA
KARŞI TRAMADOL VE AGMATİNİN ETKİLERİNDE NİTRERJİK
SİSTEMİN ROLÜ**

Soner METE

DOKTORA TEZİ

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. Fazilet AKSU

Bu tez, Çukurova Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri tarafından
TF2010D10 no'lu proje olarak desteklenmiştir.

ADANA – 2013

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans ve doktora eğitimim süresince bilgi ve tecrübelerinden birçok kazanımlar çıkardığım, tezimin hazırlanmasında öneri ve yapıcı eleştirileri ile beni destekleyen değerli hocam ve tez danışmanım Prof. Dr. Fazilet AKSU'ya, hayata bakış felsefesinden çok şeyler öğrendiğim Bölüm Başkanımız Sayın Prof. Dr. Ergin ŞİNGİRİK'e, birbirinden değerli Bölümümüz Öğretim Üyelerine, araştırmamın tüm aşamalarında desteğini esirgemeyen Prof. Dr. Hayri ÖZBEK'e, çalışma arkadaşlarıma ve ayrıca emeği geçmiş tüm teknik ve idari personele yardımları ve katkılarından dolayı teşekkür ederim.

Hayatım boyunca desteğini, sevgisini ve sabrını esirgemeyen aileme,
Hayatımın tüm zorlu aşamalarında gösterdiği benzersiz özveri ve anlayışıyla bana güç veren, eşim Tuğba'ya,
Sonsuz saygı, sevgi ve teşekkürlerimle...

Bu çalışma Ç.Ü. Bilimsel Araştırma Fonu tarafından, TF2010D10 no'lu proje olarak desteklenmiştir.

Soner METE

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY	ii
TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
TABLolar DİZİNİ	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	x
ÖZET	xiii
ABSTRACT	xiv
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİ	3
2. 1. Ağrı Sınıflaması	3
2.1.1. Süreye Göre Sınıflama	3
2.1.1.1. Akut Ağrı	3
2.1.1.2. Kronik Ağrı	3
2.1.2. Kaynaklandığı Bölgeye Göre Ağrı Sınıflaması	3
2.1.2.1. Somatik Ağrı	3
2.1.2.2. Visseral Ağrı	4
2.1.2.3. Sempatik Ağrı	4
2.1.3. Mekanizmalara Göre Ağrı Sınıflaması	4
2.1.3.1. Deafferantasyon Ağrısı	4
2.1.3.2. Reaktif Ağrı	4
2.1.3.3. Psikosomatik Ağrı	4
2.1.3.4. Nosisseptif Ağrı	4
2.1.3.5. Nöropatik Ağrı	5
2.2. NÖROPATİK AĞRI VE MEKANİZMALARI	6
2.2.1. Nöropatik Ağrı	6
2.2.2. Nöropatik Ağrı Mekanizmaları	6
2.2.2.1. Periferik Mekanizmalar	7
2.2.2.1.1. Patolojik Sensitizasyon ve Ektopik Aktivite	7

2.2.2.1.2. İnflamasyon	7
2.2.2.1.3. Fenotipik Değişiklik	8
2.2.2.1.4. Primer Sensoryal Dejenerasyon	9
2.2.2.1.5. Sempatik-Somatosensoryal Karşılıklı Uyarılma	9
2.2.2.2. Santral Mekanizmalar	9
2.2.2.2.1. Nosisseptif Mesajların Modülasyonunda Değişiklikler	9
2.2.2.2.2. Anatomik Reorganizasyon ve A β Filizlenme	10
2.2.2.2.3. Spinal Kordda Sensitizasyon	10
2.2.2.2.4. Beyindeki Değişiklikler	12
2.2.2.2.5. İnhibisyon Kaybı	12
2.3. NÖROPATİK AĞRI TEDAVİSİNE YAKLAŞIM	13
2.3.1. Tedaviye Bakış	13
2.3.2. İlaç Tedavisi	14
2.3.2.1. İlk Sıra İlaç Tedavileri	14
2.3.2.1.1. Gabapentin	14
2.3.2.1.2. Topikal Antinevraljikler-%5'lik Lidokain Yamaları	15
2.3.2.1.3. Opioidler	15
2.3.2.1.4. Tramadol	16
2.3.2.1.5. Trisiklik Antidepresanlar (TCA)	16
2.3.2.1.6. İkinci Sıra İlaç Tedavileri	16
2.3.2.1.6.1. Antiepileptikler	16
2.3.2.1.6.2. Diğer Antidepresan İlaçlar	17
2.3.2.1.6.3. İkinci Sıra Sonrası İlaç Tedavileri	17
2.3.2.1.6.4. İlaç Kombinasyonları	18
2.3.2.1.6.5. Non Steroid Antiinflatuar (NSAİ) İlaçlar	18
2.3.3. Nöropatik Ağrıda Nörostimülasyon Tedavisi	19
2.4. AGMATİN	20
2.4.1. Genel Bakış	20

2.4.2. Metabolik Sentez ve Salınımı	22
2.4.3. İnaktivasyonu	24
2.4.4. Enzimatik Parçalanma	24
2.4.5. Geri-Alınım	24
2.4.6. Agmatin'in Etkileştiği Reseptörler	25
5.6.1. α_2 Adrenerjik Reseptörler	25
5.6.2. Ligandla Açılıp Kapanan Katyon Kanalları	25
2.4.7. Agmatin ve Nitrik Oksit Sentaz	27
2.4.8. Agmatin'in Biyolojik Etkisi	29
2.5. TRAMADOL	30
2.5.1. Genel Bakış	30
2.5.2. Farmakoloji	31
2.5.3. Etki Mekanizmaları-Antinosiseptif Etki-Opioid Mekanizma	31
2.5.3.1. Monoaminerjik Mekanizma	31
2.5.3.2. Antidepresan Tip Etki	32
2.5.3.3. Santral Sinir Sistemi Üzerine Etki	32
2.5.4. Kronik Ağrı ve Tramadol İlişkisi	33
2.6. NİTRİK OKSİT	34
2.6.1. Biyokimyasal Özelliği	34
2.6.2. Nitrik Oksit Sentaz	35
2.6.3. Nitrik Oksit Sentaz İnhibitörleri	36
2.6.4. Nitrik Oksit ve Sinir Sistemi	37
2.6.5. Nitrik Oksit ve Nöropatik Ağrı	38
3. GEREÇ VE YÖNTEM	39
3.1. Deney Hayvanı ve Barındırma Koşulları	39
3.2. Cerrahi Operasyon	39
3.3. Sham Operasyonu	40
3.4. Deney Grupları ve Uygulama Sıraları	41
3.5. Cold Plate Testi	42
3.6. Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Uygulama Şekilleri	43
3.7. Sonuçların Değerlendirilmesi ve İstatistiksel Analiz	43

4. BULGULAR	44
4.1. Mononöropati Yapılan Hayvanlarda Cold Plate Latensi (CPL)	44
4.2. Cold Plate Testinde Tramadol ve L-Arjinin Etkileşimi	45
4.3. Cold Plate Testinde Tramadol ve N-Nitro-L-arjinin Metil Ester Etkileşimi	46
4.4. Cold Plate Testinde Tramadol ve N-Nitro-D-arjinin Metil Ester Etkileşimi	47
4.5. Cold Plate Testinde Tramadol ve N-metil-L-arjinin Asetat Etkileşimi	48
4.6. Cold Plate Testinde Tramadol ve 7-Nitroindazol Etkileşimi	49
4.7. Cold Plate Testinde Agmatin ve L-Arjinin Etkileşimi	50
4.8. Cold Plate Testinde Agmatin ve N-Nitro-L-arjinin Metil Ester Etkileşimi	51
4.9. Cold Plate Testinde Agmatin ve N-Nitro-D-arjinin Metil Ester Etkileşimi	52
4.10. Cold Plate Testinde Agmatin ve N-metil-L-arjinin Asetat Etkileşimi	53
4.11. Cold Plate Testinde Agmatin ve 7-Nitroindazol Etkileşimi	54
4.12. Cold Plate Testinde Tramadol ve Agmatin Etkileşimi	55
5. TARTIŞMA	56
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	64
7. KAYNAKLAR	65
8. ÖZGEÇMİŞ	76

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.	Agmatin'in kimyasal yapısı.	21
Şekil 2.	Agmatin'in sentez ve metabolizması.	23
Şekil 3.	Agmatin içeren bir nöronun sinaptik olarak gösterilmesi.	27
Şekil 4.	Tramadol'un atom modeli yapısı.	30
Şekil 5.	Tramadol'un enantiomerleri.	30
Şekil 6.	Nitrik oksitin, NOS enzimi etkisi ile l-arjinin aminoasidinden sentezlenmesi.	34
Şekil 7.	Kas diseksiyonu ve siyatik sinirin ortaya çıkarılması.	40
Şekil 8.	Kas diseksiyonu yapıp siyatik sinire dokunulmaksızın kapatılması.	40
Şekil 9.	Deney grupları ve uygulamalar.	41
Şekil 10.	Cold plate cihazı.	42
Şekil 11.	Siyatik sinir ligasyonu yapılan ve yapılmayan pençelerdeki fiziksel görünüm.	44
Şekil 12.	Kontrol, sham ve NP gruplarında CPL latensileri.	44
Şekil 13.	Cold plate testinde tramadol ve l-arjinin etkileşimi.	45
Şekil 14.	Cold plate testinde tramadol ve n-nitro-l-arjinin metil ester etkileşimi.	46
Şekil 15.	Cold plate testinde tramadol ve n-nitro-d-arjinin metil ester etkileşimi.	47
Şekil 16.	Cold plate testinde tramadol ve n-metil-l-arjinin asetat etkileşimi.	48
Şekil 17.	Cold plate testinde tramadol ve 7-nitroindazol etki.	49
Şekil 18.	Cold plate testinde agmatin ve l-arjinin etkileşimi.	50
Şekil 19.	Cold plate testinde agmatin ve n-nitro-l-arjinin metil ester etkileşimi.	51
Şekil 20.	Cold plate testinde agmatin ve n-nitro-d-arjinin metil ester etkileşimi.	52
Şekil 21.	Cold plate testinde agmatin ve n-metil-l-arjinin asetat etkileşimi.	53
Şekil 22.	Cold plate testinde agmatin ve 7-nitroindazol etkileşimi.	54
Şekil 23.	Cold plate testinde tramadol ve agmatin etkileşimi.	55

TABLolar DİZİNİ

Tablo 1.	Nöropatik ağrıda ilk sıra, ikinci sıra ve ikinci sıradan sonraki tedavi önerileri.	14
Tablo 2.	Agmatin'in çeşitli dokularda dağılımı.	21
Tablo 3.	Tramadol'un, enantoimerlerinin, aktif metabolitinin (M1) ve diğer bileşiklerin invitro aktiviteleri.	31
Tablo 4.	Üç NOS izoformunun karşılaştırması.	35
Tablo 5.	Kullanılan kimyasal maddeler ve uygulama şekilleri.	43

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

α	Alfa
ADC	Arjinin dekarboksilaz
ADP	Adenozin difosfat
AEİ	Antiepileptik ilaçlar
AG	Agmatin sülfat
AMPA	Alfa-amino-3-hidroksi-5-metil-4-isoksazol propionik asit
ATP	Adenozin trifosfat
β	Beta
Ca^{+2}	Kalsiyum iyonu
CaM	Kalsiyum kalmudulin kompleks
cGMP/sGMP	Siklik guanil mono fosfat
CGRP	Kalsitonin geni ile ilgili peptin
CPL	Cold plate latensi
δ	Delta
DBS	Derin beyin stimülasyonu
D-NAME	N-nitro-D-arjinin metil ester
DSÖ	Dünya sağlık örgütü
eNOS	Endotelyal nitrik oksid sentaz
EOS	Endojen opioid sistem
EOP	Endojen opioid peptid
FAD	Flavin adenin dinükleotid
FMN	Flavin mononükleotid
GABA	Gamma aminobütirik asit
GDNF	Gliyal hücre türevi nörotropik faktör
HIV	İnsan immün yetmezlik virüsü
IASP	Uluslararası Ağrı Araştırmaları Örgütü (International Association for the Study of Pain)
I_1, I_2, I_3	İmidazolin reseptör alt tipleri
IL1	İnterlökin-1

IL6	İnterlökin-6
i.m.	İntramüsküler
i.p.	İntraperitoneal
iNOS	İndüklenebilir nitrik oksid sentaz
κ	Kappa
K^+	Potasyum iyonu
LA	L-arjinin monohidroklorid
L-NA	N-nitro-l-arjinin
L-NAA	N-amino-l-arjinin
L-NAME	N-nitro-l-arjinin-metil ester
L-NIO	N-iminoetil-l-ornitin
L-NMMA	N-metil-l-arjinin asetat
LNRH	Lüteinize edici hormon salıverici hormon
MCS	Epidural motor korteks stimülasyonu
Mg^{+2}	Magnezyum iyonu
mRNA	Mesajcı ribo nükleik asit
μ	Mü
Na^+	Sodyum iyonu
NA	Noradrenalin
NADPH	Nikotinamid adenin dinükleotid
nACH	Nikotinik
NGF	Sinir büyüme faktörü
NMDA	N-metil d-aspartat
NO	Nitrik oksid
NOS	Nitrik oksid sentaz
nNOS	Nöronal nitrik oksid sentaz
NP	nöropati/mononöropati
NRS	Sinir kökü stimülasyonu
NSAİ	Non-streoid antiinflamatuvar
ODC	Ornitin dekarboksilaz
PHN	Post herpetik nevralsi
PNS	Periferik sinir stimülasyonu

PSL	Parsiyel Sıkı Ligasyon
rTMS	Tekrarlayan transkranial manyetik stimülasyon
SCS	Spinal kord stimülasyonu
SF	Serum fizyolojik
SSRI	Selektif serotonin geri-alım inhibitörü
SSS	Santral sinir sistemi
TCA	Trisiklik antidepresan
TENS	Transkutanöz elektriksel sinir stimülasyonu
TIBDAM	Ç. Ü. Tıbbi bilimler deneysel araştırma merkezi
TNF- α	Tümör nekrozu faktörü alfa
TR	Tramadol hidroklorür
WD	Wallerian Dejenerasyon
WDR	Geniş dinamik sınır
5-HT/5-HT ₃	5-hidroksi triptamin
7-NI	7-nitroindazol

ÖZET

Farelerde Oluşturulan Deneysel Nöropatik Ağrıya Karşı Tramadol ve Agmatinin Etkilerinde Nitrerjik Sistemin Rolü

Yaşam kalitesini belirgin olarak düşüren nöropatik ağrının tedavisinde antikonvülsanlar, antidepresanlar, lokal anestezipler, NMDA antagonistleri, sodyum kanal blokörleri, narkotik analjezikler gibi çeşitli ilaçlar kullanılmakla birlikte alternatif tedaviler üzerine de yoğun olarak çalışılmaktadır. Üzerinde çalışılan ilaçlardan birisi olan tramadol'un, nöropatik ağrı semptomlarını azalttığı bildirilmiştir. Santral sinir sisteminde yeni bir nöromediyatör olarak bilinen agmatin'in ise deneysel akut ve kronik ağrı çalışmalarında antinöroinflamatuvar etkileri bildirilmiştir.

Bu tez çalışmasında siyatik sinir parsiyel sıkı ligasyonu ile oluşturulan nöropatik ağrı modelinde tramadol ve agmatinin tek ve kombine kullanıldıklarında antiallodinik etkileri ile bu etkilerde nitrerjik sistemin rolünün incelenmesi amaçlanmıştır.

Çalışmada Balb/c türü erkek farelerde anestezi altında sağ siyatik sinir bağlanarak nöropati oluşturuldu. Naive, sham, NP kontrol ve NP + İlaç grupları oluşturuldu. Nöropatik ağrı, soğuk allodini (cold-plate) yöntemi ile siyatik sinir ligasyonundan iki hafta sonra test edildi. Tramadol ve agmatin'in antiallodinik etkileri incelendi. Bu etkilerde nitrerjik sistemin rolünü araştırmak üzere nitrik oksid prekürsörü L-arjinin (LA), nitrik oksid sentaz inhibitörleri L-NAME, L-NMMA ve 7-NI kullanıldı. Son olarak tramadol ve agmatin kombinasyonunun antiallodinik etkisi incelendi.

Deneylerin sonuçlarına göre tramadol ve agmatin nöropati oluşturulan farelerde cold-plate latensini uzatarak antiallodinik etki oluşturdu. LA her iki ilacın antiallodinik etkisini değiştirmedi. Uygulanan üç NOS inhibitörü tramadol'un antiallodinik etkisini artırırken, agmatinin etkisini ise sadece L-NAME artırdı. Kombine uygulanan tramadol ve agmatin, tek başlarına göstermiş olduklarından daha yüksek bir antiallodinik etki gösterdiler.

Bulgularımıza göre tramadol ve agmatin'in nöropatik ağrıda ümit veren bileşikler olduğu ve iki bileşiğin kombine kullanımının daha etkili olacağı söylenebilir. Bu maddelerin antiallodinik etkilerinde NOS inhibisyonunun rolü farklı dereceldedir ve etkilerinde sadece NOS inhibisyonu değil, farklı mekanizmalar da rol oynayabilir.

Anahtar Sözcükler: Nöropatik ağrı, Tramadol, Agmatin, Siyatik sinir parsiyel sıkı ligasyonu, Nitrerjik sistem

SUMMARY

The Role of Nitrergic System on The Effects of Tramadol and Agmatine in An Experimental Neuropathic Pain Model.

Neuropathic pain (NP) which reduces significantly quality of life usually resistant to common analgesics. Some second-indication drugs such as tricyclic antidepressants, anticonvulsants and local anesthetics have been used in the treatment of NP, however they are usually not fully effective. In the last years some studies have been reported that tramadol reduced the symptoms of neuropathic pain. On the other hand, recent studies suggests that agmatine might be an important neurotransmitter in central nervous system and has potential as a treatment of pain.

The present study determined the antiallodynic effects of tramadol and agmatine alone and with combination and the involvement of nitric oxide in these effects.

Male balb/c mice were used in all experiments. Experimental mononeuropathy was developed by ligation of right sciatic nerve of mice under general anesthesia. Mice were divided into naive, sham, neuropathy control (NP), and NP + drugs groups. Neuropathic pain was tested by cold allodynia using cold-plate test on day 14 after operation. The antiallodynic effects of tramadol and agmatine were assessed. Nitric oxide precursor L-arginin (LA), nitric oxide synthase (NOS) inhibitors L-NAME, L-NMMA and 7-NI were used to investigate the role of nitric oxide in these effects,. Lastly, the combined effects of tramadol and agmatine was determined.

Cold plate latency (CPL) was decreased significantly in NP groups compared to naive and sham-operated groups. These results show that neuropathy was developed in sciatic nerve ligated mice. Tramadol and agmatine showed antiallodynic effect by enhance CPL. LA did not changed the effects of tramadol and agmatine. All NOS inhibitors enhanced the antiallodynic effect of tramadol while only L-NAME enhanced the effect of agmatine. The combined use of tramadol and agmatine showed greater antiallodynic effect than the effects of individual drugs.

According to findings, tramadol and agmatine are promising drugs for treatment of NP and combined use of these drugs may be more effective. The role of inhibition of NOS in the antiallodynic effects of these two drugs were different in extent. Other possible mechanisms beside NOS inhibition may involve in the effects of these two drugs.

Key words: Neuropathic pain, Tramadol, Agmatine, Partial tight ligation of sciatic nerve, Nitrergic system

1. GİRİŞ

Nöropatik ağrı, periferik veya santral sinir sisteminin (SSS) bir kısmının zedelenmesi, fonksiyonunun bozulması veya uyarılabilirliğinin değişmesi ile ilgili bir ağrıdır. Nöropatik ağrının patofizyolojisi henüz net olarak tanımlanamamıştır. Günümüze değin konu ile ilgili olarak birçok insan ve hayvan çalışması yapılmış, patogeneze açıklanmaya çalışılmış, tedavi seçenekleri geliştirilmiştir^{1,2}.

Nöropatik ağrı, periferik veya santral sinir sisteminden kaynaklanan ve ilgili nöral yapıların uyardığı bölgelerde hissedilen ağrılara verilen genel isimdir. Normalde ağrı, oluşan doku hasarı ile ilgili olarak organizma için uyarıcı bir fonksiyona sahiptir^{1,2}. Nöropatik ağrının nosiseptif ağrıdan en belirgin farkı, sürekli bir nosiseptif uyarının bulunmamasıdır. Sorunu başlatan bir malfonksiyondur ve bu durum diyabet, immün yetmezlikler, inflamatuvar süreçler, malign, travmatik ve iskemik durumlar gibi, periferik ya da santral nedenlerden de köken alabilir³. Fakat nöropatik ağrı, hala tedavisi güç ağrı sendromları arasında bulunmaya devam etmekte ve bazı durumlarda yeterli analjezi sağlanamamaktadır. Bu nedenlerden dolayı nöropatik ağrı gerek patofizyolojisi gerekse tedavisi ile uzun yıllardır klinisyenler ve araştırmacılar açısından ilgi odağı olmuştur⁴.

Allodini ve hiperaljezi, nöropatik ağrının en önemli klinik belirtilerindendir. Bu davranışsal belirtilerin insanlarda oluşmasının yanı sıra deneysel nöropatik ağrı modellerinde de görüldüğü belirlenmiştir. Sıçanlarda parsiyel sinir zedelenmesine bağlı olarak ortaya çıkan nöropati modelleri, en sık kullanılan ve en geçerli yöntemler arasındadır. Bu modellerde allodini ve hiperaljezi gibi nöropatik ağrının davranışsal belirtilerinin ortaya kolaylıkla çıktığı defalarca gösterilmiştir⁵⁻⁸. Ancak nöropatik ağrının moleküler temel ve mekanizmalarının tamamen aydınlatılabilmesi için sadece sıçan modelleri yeterli değildir. Sıçanlarda genetik düzenleme yapılmasının zor olması, kronik ağrının moleküler mekanizmalarının aydınlatılmasında fare modellerinin önemini artırmıştır^{9,10}.

Kronik ağrı durumlarının, özellikle nöropatik ağrının, ilaç tedavisine yanıtı oldukça yetersizdir¹¹. Analjezikler, trisiklik antidepressanlar ve bazı antikonvülsan ilaçların günümüzde nöropatik ağrı tedavisinde kullanılmalarına karşın, alınan yanıtlar ve ilaçların etkinlikleri belirgin değişiklikler göstermektedir¹¹⁻¹³. En güçlü analjezikler

olarak değerlendirebileceğimiz, morfin ve diğer opioid ilaçların bile nöropatik ağrıdaki etkinlikleri günümüzde tartışmalıdır. Bu ilaçların ancak ciddi yan tesirlerinin belirgin olarak ortaya çıktığı yüksek dozlarıyla etkinlik gösterebildikleri kabul edilmektedir^{11,12,14}. Bu nedenlerle nöropatik ağrı tedavisi için yeni ve etkin ilaçlara gereksinim duyulmaktadır.

Klinik çalışmalarda nöropatik ağrı tedavisinde etkin olduğu ortaya konan tramadol'un, siyatik sinir ligasyonu ile nöropatik ağrı modeli oluşturulan kemirgenlerde önemli derecede antinosiseptif etkinliği olduğu gzlenmiştir^{15,16}. Tramadol'un opioid reseptörlere düşük afinite göstermesi, etkisinin naloksonla kısmen bloke edilmesi, noradrenerjik ve serotonerjik mekanizmaların katkısının tam aydınlatılamamış olması, bu ilacın etki mekanizmasında ağrı ve analjezi ile ilgili diğer sistemlerin de katkısının olabileceğini akla getirmektedir¹⁷. Öte yandan, son yıllarda yapılan pek çok çalışmada ağrı ve analjezinin modülasyonunda agmatin'in önemli rolünün olduğu gösterilmiştir. Memelilerde yeni bir santral nörotransmitter/nöromodülatör olabileceği ileri sürülen agmatin, imidazolin reseptrlерinin endojen ligandıdır¹⁸. Agmatin, imidazolin reseptörleri (I₁ ve I₂) dışında α_2 -adrenoreseptrlere, serotonin (5-HT) ve nikotinik asetilkolin reseptörlere de bağlanmaktadır. NMDA (N-metil-D-aspartat) reseptör kanalı içindeki bir bölge ile etkileşerek bu reseptörleri bloke edebilmekte ve NOS (nitrik oksit sentaz) enziminin tüm izoformlarını inhibe etmektedir¹⁹.

Daha önce yaptığımız bir çalışmada agmatin'in akut ağrı modelinde tramadol'un etkisini arttırdığını ve bu etkide nitreerjik sistemin katkısı olabileceğine dair bulgular elde ettik²⁰. Öte yandan bir başka çalışmada nöropatik ağrı modelinde tramadol'un antinosiseptif etkisi olduğu ve hem NO prekürsörü L-Arjinin hem de NO sentez inhibitörü L-NAME tarafından bu etkinin arttırıldığı gzlenmiřtir²¹. Bu sonuçlardan hareketle nöropatik ağrı modelinde, L-Arjinin yolağında yer alan ve NOS enzimlerini inhibe eden agmatin'in etkisinin araştırılmasının ayrıca tramadol'un antiallodinik etkisindeki rolünün incelenmesinin ilginç olabileceği görüşüne varılmıştır.

Bu tez çalışmasında,

(1) Bir kronik ağrı modeli olan nöropatik ağrıda tramadol ve agmatin'in etkilerini değerlendirip, bu etkilerde nitreerjik sistemin rolünü ve (2) her iki maddenin kombine kullanımında ortaya çıkacak etkiyi araştırmayı planladık.

2. GENEL BİLGİ

“Ağrı” terimi kökenini latince “poena” (ceza, işkence) sözcüğünden alır. IASP (Uluslararası Ağrı Araştırmaları Teşkilatı) tarafından 1979 yılında yapılan tanımlamaya göre: Ağrı, var olan veya olası doku hasarına eşlik eden veya bu hasar ile tanımlanabilen, hoş gitmeyen duysal ve emosyonel deneyimdir. Bu tanımlamada ağrının sübjektif, emosyonel ve psikolojik yönlerinin bir araya getirildiği belirgindir. Bu nedenlerle ağrılı uyarana karşı yanıt kişiden kişiye değişmekte, hatta aynı kişide bile farklı olabilmektedir²².

2.1. Ağrı Sınıflaması

2.1.1. Süreye Göre Sınıflama

2.1.1.1. Akut Ağrı

Ani olarak başlayan, neden olan lezyon ile arasında yer, zaman, şiddet açısından yakın ilişkinin olduğu, doku hasarıyla başlayıp, iyileşme süresince giderek azalan ve kaybolan ağrı tablosudur²².

2.1.1.2. Kronik Ağrı

Akut ağrılı hastalığın olağan seyrinden veya bir yaralanmanın iyileşme süresinden çok daha uzun aylar, hatta yıllar boyu, aralıklarla devam eden ağrıya kronik ağrı adı verilir²².

2.1.2. Kaynaklandığı Bölgeye Göre Ağrı Sınıflaması

2.1.2.1. Somatik Ağrı

Somatik ağrı, daha çok somatik sinir lifleriyle taşınan ağrıdır. Ani olarak başlar, keskindir, iyi lokalize edilir, batma, sızlama, zonklama tarzındadır. Sinirlerin yayılım bölgesinde algılanır. Genellikle travma, kırık, çıkık gibi durumlarda görülen ağrı somatik ağrı olarak isimlendirilir²².

2.1.2.2. Visseral Ağrı

İç organların veya zarlarının (paryetal plevra, perikard, periton) anormal işlevi veya hastalığına bağlı olarak gelişen akut ağrıdır. Yavaş başlar, künt ve sızlayıcıdır, lokalizasyonu güçtür²².

2.1.2.3. Sempatik Ağrı

Sempatik sinir sistemi aktivasyonu ile ortaya çıkan sempatik ağrıya damarsal kökenli ağrılar, refleks sempatik distrofi örnek verilebilir. Bu ağrılar yanma tarzındadır²².

2.1.3. Mekanizmalara Göre Ağrı Sınıflaması

2.1.3.1. Deafferantasyon Ağrısı

Periferik ya da merkezi sinir sistemindeki lezyonlara bağlı duysal uyarıların merkezi sinir sistemine iletimini kesilmesi ile ortaya çıkan ağrılardır²².

2.1.3.2. Reaktif Ağrı

Motor ya da sempatik afferentlerin refleks aktivasyonu sonucu nosiseptörlerin uyarılmasına bağlı olarak ortaya çıkar. Bu tip ağrılara miyofasyal ağrılar örnek gösterilebilir^{22,23}.

2.1.3.3. Psikosomatik Ağrı

Hastanın psişik ya da psikososyal sorunlarını ağrı biçiminde ifade etmesidir. Buna örnek olarak somatizasyon dediğimiz klinik durum verilebilir. Hasta bir anlamda ağrıyı kullanmakta, çeşitli kişisel, ekonomik ve toplumsal sorunlarını ağrı biçiminde ifade ederek ilgi çekmeye ve toplumun kendisi üzerinde dikkatini toplamaya çalışmaktadır²⁴.

2.1.3.4. Nosiseptif Ağrı

Nosiseptif ağrı fizyopatolojik bir takım olayların ve süreçlerin nosiseptör adını verdiğimiz ağrı algılayıcılarını uyarmasına bağlı olarak ortaya çıkar²⁴.

2.1.3.5. Nöropatik Ağrı

Nöropatik ağrı, periferik sinirlerde, travma veya metabolik bir hastalık sonucunda nosiseptörlerin doğrudan etki altında kalmasıyla ortaya çıkan bir ağrıdır²⁴. Oluşum süreci ve mekanizmaları daha detaylı bir şekilde bir sonraki bölümde anlatılmıştır.

2.2. NÖROPATİK AĞRI VE MEKANİZMALARI

2.2.1. Nöropatik Ağrı

Nöropatik ağrı, sinir sisteminin disfonksiyonu veya primer lezyonu sonucu, inflamatuvar ağrının aksine genellikle sinir hasarından uzunca bir süre sonra ortaya çıkar. Fizyolojik ağrıya karşın, nöropatik ağrı eksternal uyaran olmaksızın ve/veya normalde zararsız bir uyaran karşısında artmış spontan ağrı ile karakterizedir. Somatosensoryel sistemin anormal uyarılması söz konusudur. Nöropatik ağrı normal nosiseptif yollardan geçer ve çoğunlukla direkt doku hasarı yolu ile başlatılır^{22,24}.

Nöropatik ağrı mekanizmalarının nosiseptif ağrıdan en önemli farkı santral ve periferik mekanizmaların rolüdür. Nöropatik ağrı uyarandan bağımsız, spontan bir ağrı gibi ortaya çıkabildiği gibi, hipersensitivite sonrası ya da sensoryal nöronların değişikliği sonrasında uyarana bağlı olarak da oluşabilir²⁵.

Nöropatik ağrının altında yatan mekanizma tamamen anlaşılammıştır, ancak komplekstir, multifaktöriyeldir ve zaman içinde gelişir²⁵⁻²⁷. Santral sinir sisteminin toksinler, enfeksiyon, virüsler, metabolik hastalıklar, beslenme yetersizlikleri, iskemi, travma ve inme gibi çok çeşitli nedenlerle hasara uğraması nöropatik ağrıya yol açar. Güncel çalışmalar nöropatik ağrının periferik ve santral sinir sisteminde ağrılı sinyallerin iletiminde sensitizasyonla sonuçlanan hücresel değişikliklerden kaynaklandığını ortaya koymaktadır. Nöronların periferik ve santral sinir sisteminde nosiseptif uyarılar nedeniyle yapılarını ve fonksiyonlarını değiştirme yeteneği nöroplastisite olarak tanımlanır. Klinikte bu değişiklikler nöropatik ağrının semptomlarıyla ilişkilidir²⁷.

2.2.2. Nöropatik Ağrı Mekanizmaları

Nöropatik ağrının olası mekanizmalarını periferik ve santral olarak iki kısma ayırabiliriz. Detaylı bir şekilde bir sonraki başlıkta bu mekanizmalara yer verilmiştir.

2.2.2.1. Periferik Mekanizmalar

2.2.2.1.1. Patolojik Sensitizasyon ve Ektopik Aktivite

Sinir hasarı sonrası primer afferent nosiseptif nöronlarda patolojik sensitizasyon ve ektopik sinyaller oluşur. Ağrı duyusu normalde primer afferent nöronların miyelinsiz C lifleri ve ince miyelinli A delta liflerinin aktivasyonuna yol açar. A delta liflerinin nöropatik ağrıya katkıları hakkındaki bilgiler sınırlıdır²⁷. C nosiseptörleri normalde uyarıcı yokluğunda sessizdirler ve noksiyöz uyarılara yanıt verirler. Bununla birlikte, sinir hasarı sonrası bu nöronlar anormal duyarlı hale gelirler ve patolojik spontan aktivite geliştirirler^{27,28}. Periferik sinir hasarı olduğunda; periferik sinir sonlanmalarında sensitizasyona ek olarak, hasar bölgesinden uzaktaki dorsal kök gangliyonunun yanındaki bölgede de spontan ektopik aktivite oluşur²⁹. Bu patolojik değişiklikler primer afferent nosiseptörlerde sinir hasarı tarafından tetiklenen, moleküler ve hücrel değişikliklerin temelini oluşturur.

Sinir hasarını izleyen ektopik spontan aktivite primer afferent nöronlardaki voltaj kapılı Na⁺ kanalları için mesajcı ribo nükleik asit (mRNA) salınımının artmasından kaynaklanır³⁰. Sodyum kanallarının ektopik sinyal bölgelerinde kümelenmesinin, aksiyon potansiyeli eşliğini düşürerek hiperaktiviteye neden olduğu düşünülmektedir. Periferik sinir hasarından sonra Na⁺ kanal kümelenmeleri sadece hasar bölgesinde değil proksimalde dorsal kök gangliyonunda da oluşur³¹. Ossilasyon sinüzoidleri eşige ulaştıkları zaman ektopik ateşlenme görülür. Ekstremitte amputasyonu yapılmış insanlarda görülen fantom ağrısında spontan yanıcı ağrı ve elektrik şoku benzeri duyular gözlenir. Bu nedenle nöropatik ağrı tedavisinde sodyum kanal blokörleri önemli fayda sağlarlar³².

2.2.2.1.2. İnflamasyon

Periferik sinir gövdesindeki inflamasyon periferik sinir hasarı sonrası olası mekanizmalardandır. Periferik sinirleri çevreleyen konnektif bağ dokusu sensoryal lifler (nervi nervorum) tarafından uyarılır. Nervi nervorumlar periferik sinirlerin konnektif bağ dokusuna, besleyici kan damarlarıyla girer. Endonöral kan damarlarında proliferasyon ve makrofajların aktivasyonu sinir kesisi sonrası dorsal kök gangliyonlarında ve deneysel olarak hasarlanan sinirlerde gösterilmiştir³³.

Nervi nervorumlar periferik sinir hastalıklarının inflamatuvar komponentinin bulunduğu hastalıklarının potansiyel kaynağını oluşturur. Sinir lezyonu bölgesindeki direkt doku hasarı, hasarlanmış hücrelerden adenosin trifosfat (ATP) ve protonların salınımına yol açar. Endonöral makrofajlardan sitokinler (IL₁, IL₆, TNF_α) ve büyüme faktörleri (NGF ve lösemi inhibe edici faktör) salınır. Makrofaj, lenfosit ve mast hücrelerinden bradikinin ve serotonin salınır. Primer afferent nosiseptörün kendisi de P maddesi ve kalsitonin gen ilişkili peptid (CGRP) gibi nöropeptid salınımı yoluyla inflamatuvar yanıtta katkıda bulunur. Serotonin vazodilatasyon ve ödeme neden olur. Bradikinin C liflerini, araşidonik asit metabolizmasındaki fosfolipaz A₂'yi ve siklooksijenazı aktive eder. Sonuç olarak prostaglandin ve lökotrienlerin sentezi artar. Prostaglandinler sensitize olmuş sinir uçlarından P maddesi salgılanmasına neden olur. Prostaglandinler ve serotonin birlikte vasküler permeabilite artışına neden olur. Böylece bradikinin salınımı artar. Artan bradikinin prostaglandin yapımını ve P maddesi yapımını artırır. Sonuç olarak komşu hasar bölgelerdeki nosiseptörleri sensitize eder, hiperaljezi meydana gelir. Yani düşük şiddetteki uyarı daha şiddetli olarak algılanır. Buna periferik sensitizasyon, fenomene de primer hiperaljezi denir³⁴.

Periferik sinirlerdeki hasar primer afferentlerin membranında yer alan çeşitli reseptör proteinlerinin upregülasyonuna da neden olur. Vanilloid reseptörler A delta ve C liflerinin periferik terminallerinde dominant olarak bulunurlar ve kapsaisin tarafından aktive edilirler. Fizyolojik olarak bu reseptör noksiyöz ısıyı (> 43 °C) algılar. Parsiyel sinir hasarından sonra ve streptozisinle indüklenen diyabetik sıçanlarda bu durum dramatik olarak değişir; hasarsız A beta ve C liflerinde de vanilloid reseptörler belirir³⁵.

P maddesi normalde A delta ve C liflerinin santral terminallerinden salınır ve dorsal boynuzdaki nosiseptif nöronların Nörokinin-1 reseptörlerine bağlanır. Sinir hasarı sonrası dorsal boynuzdan Nörokinin-1 ekspresyonu artar³⁶. Bu sonuçlar sinir hasarının spinal nosiseptif nöronlarda bulunan Nörokinin-1'in eksitasyonunu başlatan P maddesinin A beta liflerinden sentez ve tonik salınımıyla sonuçlandığı hipotezini destekler.

2.2.2.1.3. Fenotipik Değişiklik

Differansiye nöronlardaki özellikli genler nöronların fonksiyonlarını kodlarlar. Primer sensoryal nöronlardaki bu genler transdüksiyon, kondüksiyon ve sinaptik iletide

rol alırlar. Periferik sinir hasarı sonrası yüzlerce genin regülasyonunda artma veya azalma meydana gelir³⁷. Bu değişikliklerin sonucunda nöronların transdüksiyon ve transmisyon özelliklerinde olduğu kadar eksitabilitelerinde de değişimler meydana gelir. Sonuçta nöronların fenotipik yapısı da değişir. Örneğin P maddesi sadece C liflerinden salınır, ancak periferik sinir hasarı sonrası A liflerinden de salınır³⁸.

2.2.2.1.4. Primer Sensoryal Dejenerasyon

Periferik sinir hasarı dorsal kök gangliyonu nöronlarının hücre gövdelerinin periferik hedefleriyle bağlantısında aksamaya neden olur. Bu hedefler sinir büyüme faktörü (NGF) veya gliyal hücre türevi nörotropik faktör (GDNF) gibi büyüme faktörlerinin kaynaklarıdır. Periferik sinir hasarından haftalar sonra hasarlı nöronlarda atrofik değişiklikler oluşur. Bunlar akson çapında azalma, hücre gövdesinin boyutunda küçülme, afferentlerin santral terminallerinin spinal kord nöronlarıyla bağlantılarında azalmadır. Sinir hasarından birkaç ay sonra bazı nöronlar ölmeye başlar, bu nöronların çoğu C lifleridir³⁹.

2.2.2.1.5. Sempatik-Somatosensoryal Karşılıklı Uyarılma

Sempatik sinir liflerinde stimülasyon sonrası aynı sinir kökündeki afferent liflerde deşarjlar gözlenebilir. Afferent nöronlardaki sempatik iletişimin, hasarlı primer aksonlardaki alfa adrenerjik reseptörlerdeki artış sonucunda geliştiği düşünülmektedir. Sempatik ve somatosensoryal afferentler arasında karşılıklı etkileşim nöromalarda ve dorsal kök gangliyonlarında gözlenebilir. Bunun yanı sıra sempatik aksonlar dorsal kök gangliyonlarında ana hücreler etrafında sepet benzeri oluşumlar yaparak depolarizasyona yardım ederler. Bu olayın sorumlusunun NGF olduğu düşünülmektedir⁴⁰.

2.2.2.2. Santral Mekanizmalar

2.2.2.2.1. Nosiseptif Mesajların Modülasyonunda Değişiklikler

Ağrı kontrol sistemlerinde bozulma spinal kord seviyesinde segmenter, supraspinal oluşumlar seviyesinde supraspinal veya desendan inhibitör kontrolün kaybı şeklinde görülür. Spinal seviyede presinaptik inhibisyon azalması ile segmenter kontrol bozulur. Bunun yanında geniş dinamik sınır (WDR) nöronlarının miyelinli afferentlerde

postsinaptik inhibisyonunun azalması yine segmenter ağrı kontrol sisteminde bozulmaya yol açar⁴¹⁻⁴⁴. Devamlı akan nosiseptif girdi beyin sapı nöronlarının aktivitesinde uzun süren değişikliklere yol açar. Bunlar ağrının fasilitasyonuna ve nöropatik ağrının devamına yardım eder hale gelirler. Burada desendan liflerin inhibisyon yerine fasilitasyon görevi yaptıkları görülmektedir ve fasilitasyonun beyin sapında kolesistokinin tarafından gerçekleştirildiği düşünülmektedir. Supraspinal oluşumlar arasında talamusta ağrı-bağımlı plastik değişiklikler, kortikal somatosensoryal bölgelerde reorganizasyon, bazal gangliyonlarda bölgesel kan akımı değişiklikleri saptanmıştır. Supraspinal oluşumlardaki bu değişikliklerin nöropatik ağrının oluşum ve gelişiminden sorumlu oldukları düşünülmektedir^{45,46}.

2.2.2.2.2. Anatomik Reorganizasyon ve A_β Filizlenme

Spinal kord dorsal boynuzunda bulunan lamina II (substantia gelatinoza)'deki nöronlar A delta ve C liflerinden girdileri doğrudan alır ve noksiyöz uyarıyı yanıtlarlar. Periferik sinir hasarı lamina II' deki C liflerinin dejenerasyonuna neden olabilir⁴⁷. Hasarsız A beta liflerinin lamina III ve IV' deki santral projeksiyonları lamina II' ye filizlenir ve ikincil ağrı ileten nöronlarla sinaps yapar. Bu şekilde ağrısız uyarılar ağrılı hale gelir ve bu durum allodini olarak tanımlanır⁴⁸. Bu durumda C liflerinde büyük kayıp vardır ve salgıladıkları nöropeptidler bu organizasyondan sorumludur^{38,39}.

2.2.2.2.3. Spinal Kordda Sensitizasyon

Periferik nosiseptör hiperaktivitesi sonucunda spinal kord dorsal boynuzunda sekonder değişiklikler oluşur. Periferik sinir hasarı spinal kord nöronlarında eksitabilite artışına neden olur. Hipereksitabilitenin bileşenleri: noksiyöz stimulusa yanıt olarak nöronal aktivitede artma, nöronal reseptif alanlarda genişleme ve spinal hipereksitabilitenin diğer segmentlere yayılmasıdır. Bu fenomene santral sensitizasyon adı verilir ve aşırı duyarlılaşmış C liflerinin aktivitesiyle başlar⁴⁹. Normal nosiseptif A delta ve C liflerinin girdileri bu liflerin santral terminallerinden glutamat salınımına neden olur. Glutamat bir takım reseptör alt tiplerine farklı afinitelerle bağlanır. Bu reseptörler iyonotropik N-metil D-Aspartat (NMDA) ve α -amino-3-hidroksi-5-metil-4-isoksazol propionik asit (AMPA) reseptörleridir. Glutamat ayrıcalıklı olarak NMDA reseptörlerine bağlanır. Normal şartlar altında (membran potansiyeli istirahat

halindeyken) bu iyon kanalı magnezyum iyonlarının reseptör porlarını tıkamasıyla bloke olur. Düşük afiniteli AMPA reseptörleri glutamat bağlanmasıyla aktive olurlar ve bu kanallardan sodyum, potasyum ve kalsiyum iyonlarının akışı dorsal boynuz hücrelerinde depolarizasyona ve eksitator postsinaptik potansiyelerde hızlanmaya neden olur. Daha yoğun veya uzamış nosiseptör aktivasyonu (özellikle C liflerinin aktivasyonu) protein nöromodulatorleri ve medyatörlerinde salınım artışıyla sonuçlanır. Bu durum uzamış depolarizasyona veya yavaş sinaptik potansiyellerin oluşumuna katkıda bulunur. Bütün bunlar plastisite, wind up ve santral sensitizasyona zemin hazırlar⁵⁰. Duyarlılaşmış nosiseptörlerin aktivasyon eşiği düşer ve her periferik uyarı ile deşarj hızları anormal artar. Buna ek olarak C lifleri spontan olarak ateşlenir. Dorsal boynuzda aktivitedeki bu sınırlanma presinaptik transmitter ve nöromodulator (glutamat, P maddesi, beyin kaynaklı nörotrofik faktör) salınımıyla sonuçlanır. Postsinaptik dorsal boynuz nöronlarında periferik sinir hasarı sonrası aşırı miktarda voltaj kapılı sodyum kanalı sentezlenmeye başlarlar⁵¹. Mitojen aktive protein kinaz'ı (MAPK) da içeren çeşitli intrasellüler yollar santral sensitizasyona katkıda bulunur⁵². Bu ligandlar iyonotropik reseptörlere (glutamat-NMDA, AMPA), metotropik reseptörlere (P maddesi, Nörokinin 1) ve tirozinkinaz reseptörlere etki ederler ve birçok transdüksiyon kaskadının başlamasına neden olurlar. Primer afferent nosiseptörlerin terminallerinin presinaptik bölgelerinde yer alan santral nöronal voltaj kapılı sodyum-kalsiyum kanalları, glutamat ve P maddesi salınımını kolaylaştırarak santral sensitizasyonda önemli rol oynarlar. Bu yollar, iyonik akımlardaki değişiklikler, reseptör özelliklerinin değişimi ve gen ekspresyonunun modifikasyonu gibi çeşitli sonuçlara yol açacak şekilde karmaşık bir şekilde birbirlerine yakınlaşır veya birbirlerinden uzaklaşırlar. Bu değişikliklerin ilki ve en kısa süreni NMDA reseptöründen depolarizasyonun indüklediği magnezyum bloğunun kalkmasıdır, bu sayede glutamat reseptöre bağlanarak depolarizasyonu başlatabilir. Buna “wind up” fenomeni adı verilir ve bu fenomen santral sensitizasyon oluşumuna katkıda bulunur⁵³. NMDA reseptörlerindeki posttranslasyonel modifikasyonlar, hücre depolarizasyonunun yokluğunda voltaj bağımlı magnezyum bloğunun ortadan kalkması ve kanal açılış zamanının uzaması gibi kanal kinetiklerinde değişiklikler nedeniyle dramatik eksitabilite değişiklikleriyle sonuçlanır ve bu durum santral sensitizasyon olarak adlandırılır⁵⁴. NMDA reseptör aktivasyonu hücre içine Ca^{+2} girişine izin verir ve bu

sonradan çok sayıda intrasellüler sinyal transdüksiyon kinazlarını aktive ederek ve sinaptik kuvvetin artmasına yol açarak dorsal boynuz nöronunda sinyal transdüksiyonunu artırır⁵⁵.

2.2.2.2.4. Beyindeki Değişiklikler

Birçok hayvan deneyinde santral sensitizasyonun lokalizasyonunun dorsal boynuzda olduğu gösterilmiştir; bununla beraber kemirgenlerde parsiyel periferik sinir hasarı sonrası talamus ve primer somatosensoryal kortekste sensitize olmuş nöronlar gösterilmiştir⁵⁶.

2.2.2.2.5. İnhibisyon Kaybı

Santral sinir sisteminde bilginin akışında nöronlardaki inhibitör veya eksitatör etkilerin dengesi çok önem taşır. Girdilerde artıştan kaynaklanan eksitasyon artışı spontan veya uyarılmış ağrıya neden olurken; inhibisyondaki azalma da buna benzer yanıt oluşturur. Gama amino bütirik asit (GABA) ya da glisinin yönettiği inhibisyonun farmakolojik blokajı nöropatik ağrıdaki taktıl allodiniye çok yakın bir hipersensitivite oluşturur⁵⁷. Parsiyel sinir hasarı sonrası dorsal boynuzdaki GABAerjik nöronların selektif kaybı inhibisyonu azaltır. Periferik sinir hasarının indüklediği nöral dejenerasyonun neden olduğu fonksiyon kaybı anormal ağrı duyusuna katkıda bulunur⁵⁸.

2.3. NÖROPATİK AĞRI TEDAVİSİNE YAKLAŞIM

2.3.1. Tedaviye Bakış

Nöropatik ağrı, hastalar tarafından genellikle elektrik şoku, yanma, soğuk, batıcı, gıdıklayıcı, kaşınıtıcı gibi hislerle ifade edilir. Hastalar ağrılı bölgenin uyuşukluğundan çok uyuşuk alanda hissettikleri ve dokunmayla artan elektrik çarpması, sıcaklık artışı gibi anormal hislerden endişe duyarlar. Bu bölgeyi, kıyafetinin sürtünmesinden, su temasından ve hatta rüzgarın esintisinden koruma eğilimindedirler. Fiziki muayenede genellikle belirgin bir bulgu yoktur veya nadiren anormal nörolojik bulgular gözlenebilir. Ağrının olduğu bölgede nadiren soğukluk veya çok daha nadir kızarıklık ve ısı artışı hissedilebilir. Nöropatik ağrı, birçok semptomları ve bulguları olan, zaman içinde bu semptom ve bulguların sayısında ve şiddetinde dalgalanmalarla seyreden kompleks bir oluşumdur⁵⁹.

Klinik pratikte nöropatik ağrıya sıkça rastlanmasına rağmen, benzer lezyonlarda ortaya çıkan semptomlardaki değişkenlik, tedaviye yanıtındaki farklılık ve sinir sistemi yaralanması veya disfonksiyonu olan her hastada nöropatik ağrı sendromunun gelişmemesi nöropatik ağrının anlaşılmasını güçleştiren faktörlerdir. Bu geniş değişkenlik ağrıya genetik yatkınlık, periferik nosiseptif lifler ve arka boynuzlar üzerinde sempatik sinir sisteminin aktivite veya sinaptik bağlantılarındaki farklı durumlar, değişken inflamatuvar yanıt ile açıklanmaktadır⁶⁰. Tüm bu faktörler, klinisyenlerin nöropatik ağrı sendromunda kesin tanı ve etkin tedavi uygulamalarını zorlaştırmaktadır. 2000'li yıllara kadar nöropatik ağrının uygun tedavisi ile ilgili fikir birliği yoktu ve tüm dünyada pratik uygulamalar çok değişkenlik göstermekteydi. Bunun nedenleri arasında fikir birliği olan tanısal protokollerin oluşturulmaması, aynı hastada nöropatik, nosiseptif ve bazen de idyopatik ağrının olması ve nöropatik ağrının spesifik semptomlarının altında yattığı sanılan mekanizmalar dikkate alınmaksızın etyolojisine göre sınıflandırılması sayılabilir^{61,62}. Nöropatik ağrı tedavisinde en sık önerilen tedavi şekilleri iki başlık altında incelenebilir:

1. İlaç tedavisi
2. Nörostimülasyon tedavisi

2.3.2. İlaç Tedavisi

Nöropatik ağrı tedavisinin en önemli bölümünü, genel olarak farmakoterapinin oluşturduğu kabul edilmektedir^{62,63}. Nöropatik ağrı primer analjezik tedavilere kısmen veya tamamen yanıtı olabileceğinden, nöropatik ağrının medikal tedavisinde antiepileptik ilaçlar (AEİ), antiaritmikler ve antidepresanlar gibi adjuvan analjezikler (primer endikasyonu analjezi olmayan ilaçlar) yaygın olarak kullanılmaktadır^{62,63}. Nöropatik ağrıda tedavi yaklaşımlarını geliştirmek amacıyla sistematik literatür derlemeleri, randomize kontrollü çalışma bildirimleri, klinik yönergelerin değerlendirilmesi ve geliştirilmesini tartışan yayınlardan faydalanarak ilk sıra, ikinci sıra ve ikinci sıra sonrası ilaç tedavileri üzerinde fikir birliğine varıldı (Tablo 1)⁶¹.

İLK SIRA	İKİNCİ SIRA	İKİNCİ SIRA SONRASI
Gabapentin	Diğer antiepileptikler (AEİ)	Kapsaisin
	Lamotrigin	Klonidin
	Karbamazepin	Dekstrometorfan
	Levetirasetam	Meksiletin
	Okskarbazepin	
	Tiagabin	
	Topiramet	
	Zonisamid	
5% Lidokain yaması	Diğer antidepresanlar	
Opioid analjezikler	Paroksetin	
Tramadol hidroklorid	Sitalopram	
Trisiklik antidepresanlar (TSA)	Bupropion hidroklorid	
Nortriptilin hidroklorid	Venlafaksin hidroklorid	
Desipramin hidroklorid		

Tablo 1. Nöropatik ağrıda ilk sıra, ikinci sıra ve ikinci sıradan sonraki tedavi önerileri⁶⁴.

2.3.2.1. İlk Sıra İlaç Tedavileri

2.3.2.1.1. Gabapentin

Nöropatik ağrının belirgin karakteristik özelliği epilepside de olduğu gibi nöronal eksitabilitedir. Birçok antiepileptik ilaç bir veya daha fazla mekanizma ile nöronal hipereksitabiliteyi baskılayabildikleri için nöropatik ağrının tedavisinde etkili bir şekilde kullanılmaktadır⁶⁵. Gabapentinin etki mekanizması bilinmemektedir. Yapısal

olarak GABA'ya benzer, fakat GABA bölgeleri ile etkileşmez. SSS'de GABA seviyesini arttırarak etki ettiği bildirilmektedir⁶⁶. Gabapentinin yan etkileri arasında uyku hali, baş dönmesi, daha nadiren gastrointestinal semptomlar ve orta derecede periferik ödem vardır.

2.3.2.1.2. Topikal Antinevraljikler-%5'lik Lidokain Yamaları

Lidokain yamalar etkisini deriden lokal emilip periferde sodyum kanallarını bloke ederek gösterirler. Yamadan sistemik emilim az miktarda olur. Nöropatik ağrı tedavisinde %5'lik lidokain yamasının uygulandığı ve başarılı sonuç elde edilen 3 yayınlanmış çalışma bulunmaktadır. Bunların ikisi post herpetik nevralji (PHN) ile^{67,68} diğeri de fokal nöropatik ağrı sendromları ile ilgilidir⁶⁹.

2.3.2.1.3. Opioidler

Bu grup ilaçlar, beyinde opioid peptid nöromedyatörlerin aktive ettiği opioid reseptörleri aktive ederek güçlü analjezik etki yaparlar. Endojen opioid sistem (EOS), merkezi ve periferik sinir sisteminde yaygın olarak yerleşim gösteren opioid reseptörlerinden ve endojen opioid peptidlerden (EOP) oluşur. EOS başta sinir sistemi olmak üzere birçok sistemde bulunur. Birbirinden genetik olarak bağımsız üç EOP saptanmıştır, bunlar enkefalin (met ve leu), β -endorfin ve dinorfindir. Son zamanlarda yeni iki EOP daha saptanmıştır, bunlar nosiseptin (orfanin FQ) ve endomorfindir. Endojen opioid peptidler ve eksojen opioidler, kendilerine özgü reseptörlerine bağlanarak etkilerini gösterirler. 3 tanesi iyi tanımlanmış klasik opioid reseptörü (mü, delta ve kappa) olmak üzere 5 tip opioid reseptörü bilinmektedir⁷⁰⁻⁷³. Etkilerine nöronların; mü (μ), delta (δ) ve kappa (κ) reseptörleri ve onların alt-tipleri aracılık eder. Ağrı duyumsama yanında ağrıya karşı oluşan reaksiyonu (afektif komponenti) inhibe ederler. Etkilerine karşı nispeten çabuk, kısmi bir tolerans oluşur⁷⁰⁻⁷³. Opioid tedavisinin genel olarak nöropatik ağrılı hastalarda etkili olmadığı ve ancak çok yüksek dozlarda kullanım ile sonuç alınabileceği konusunda bir fikir birliği bulunmaktadır⁷⁴. Yan etkileri nedeniyle opioidler bu hastalarda genellikle tercih edilmemektedir. Ancak son yıllarda transdermal uygulanan fentanil ile başarılı sonuçlar alındığı bildirilmektedir.

2.3.2.1.4. Tramadol

Opioid ajanlar arasında, zayıf opioid afinitesi olan ve etki mekanizmasında serotonerjik sistemin öneminin ortaya konmasından sonra popülerite kazanmış olan tramadol hidrokloridin özel bir yeri olduğu bilinmekte ve bu ajanla yapılan klinik çalışmalarda yüz güldürücü sonuçlar elde edilmektedir⁷⁵⁻⁷⁸. Tramadol'un trisiklikler ya da gabapentin ile kombine kullanımı, her iki ilacın da düşük dozda kullanılabilmesi ve etkili sonuçlar alınabilmesi fikrini doğurmakla birlikte bu konuda yapılmış kontrollü klinik çalışmalara gereksinim vardır. Tramadol'un allodini ve yaşam kalitesi üzerine faydalı etkileri olduğu da bildirilmiştir^{75,76,78}. Suistimal edilme ihtimali düşüktür ve uzun dönemli tedavi sırasında tolerans ve bağımlılık gelişmesi nadirdir. Tramadol'un en sık rastlanan yan etkileri baş dönmesi, bulantı, konstipasyon, uyku hali ve ortostatik hipotansiyondur.

2.3.2.1.5. Trisiklik Antidepresanlar (TCA)

TCA'lar sekonder ve tersiyer amin bileşikleri olmak üzere iki grupta incelenebilir. Sekonder amin bileşikleri olan nortriptilin, desipramin ve maprotilin göreceli olarak selektif bir şekilde noradrenalin geri-alımını bloke ederler. Tersiyer amin bileşikleri olan amitriptilin, imipramin ve klomipramin hem serotonin hem de noradrenalin geri-alımını bloke ederler⁷⁹. TCA'ların antinevraljik özelliklerinin antidepresan özelliklerinden bağımsız olduğu gösterilmiştir⁸⁰. TCA'ların nöropatik ağrıdaki etkinliği birçok çalışmada gösterilmiştir. TCA'lar böylelikle hem arka boynuz inhibisyonunu artırarak hem de periferik sensitizasyonu azaltarak etki gösterirler⁸¹. TCA'ların en sık yan etkileri arasında kuru ağız, konstipasyon ve postural hipotansiyon gibi antikolinergik etkiler, sedasyon ve kilo alma sayılabilir⁸².

2.3.2.1.6. İkinci Sıra İlaç Tedavileri

2.3.2.1.6.1. Antiepileptikler

Antiepileptik ilaçlar arasında karbamazepin ve bir düzeye kadar fenitoin tedavide önemli yer tutar. Özellikle semptomların paroksizmal olduğu allodini ve/veya hiperaljezinin eşlik ettiği ağrıda antikonvülzan ilaçlardan karbamazepin ilk seçenektir. Fakat son çalışmalarda trigeminal nevralsi dışında bu tür durumlarda gabapentin önerilmektedir. Antinevraljik etki mekanizmaları tam olarak ortaya konamamış

olmasına karşın fenitoin, karbamazepin ve lamotrigin gibi bazı antikonvülzanların iyon kanallarını modüle ettiği, bu şekilde membran stabilizasyonu oluşturduğu ve periferik sensitizasyonu takip eden dönemdeki ektopik deşarjları önlediği düşünülmektedir. Özellikle yan etkilerinin trisikliklere göre daha az olması ve ileri yaşlarda dahi güvenle kullanılabilmesi, giderek kullanımını artırmıştır^{83,84}.

2.3.2.1.6.2. Diğer Antidepresan İlaçlar

Selektif serotonin geri-alım inhibitörleri (SSRI)'ın daha az yan etkileri vardır ve TCA'lardan daha iyi tolere edilirler. SSRI'lar nöropatik ağrıda hem noradrenalin hem de serotoninin aktivitesini arttıran antidepresanlardan daha az etkilidirler^{82,85,86}. Nortriptilin veya diğer TCA'lara yanıt vermeyen hastalarda ek antidepresan tedavisi düşünüldüğünde sitalopram, paroksetin, bupropion, venlafaksin ve duloksetin önerilebilir.

2.3.2.1.6.3. İkinci Sıra Sonrası İlaç Tedavileri

Nöropatik ağrılı hastaların tedavisinde ara sıra uygulanan ilaçlar arasında kapsaisin, klonidin, dekstrometorfan ve meksiletin sayılabilir. 2004 yılı itibariyle nöropatik ağrı tedavisinde patent alan 100 ilaç dosyası bulunmaktadır. Bu ilaçlar arasında kannabinoid reseptör antagonistleri, α_2 -adrenerjik agonistler (klonidin, deksetomidin, tizanidin), NMDA-reseptör antagonistleri, lizin B antagonistleri, glisin antagonistleri, nikotik reseptör agonistleri, nörokinin 1 reseptör antagonistleri, bradikinin B1 reseptör antagonistleri, vanilloid reseptör antagonistleri, kolesistokinin antagonistleri, oral tümör nekrozan faktör antagonistleri, interlökin antagonistleri, nöroimmünomodülatörler ve diğerleri bulunmaktadır⁸⁶. Deniz salyangozundan elde edilen konotoksinler ve bir kurbağa cinsinden elde edilen epitadin gibi egzotik hayvan kaynaklarından elde edilen tamamen yeni ilaç sınıfları ağrı yollarındaki nöronal iletimi modüle ediyor gibi görünmektedir⁸⁷. Tedaviye yeni yaklaşımlar arasında, spinal kord yaralanması ağrısı için GABA ve serotonin-salgılayan nöron grafları, ayrıca dorsal kök gangliyonuna veya arka boynuza terapötik ajanları taşımak için herpes simpleks veya insan immün yetmezlik virüsü (HIV) benzeri virüslerin ilaç veya gen vektörleri olarak kullanılması da vardır.

2.3.2.1.6.4. İlaç Kombinasyonları

Tek bir ilaca kısmi bir yanıt alındığında ağrı kontrolünü en uygun şekilde yapabilmek için ilaç kombinasyonu düşünülmelidir. Nöropatik ağrının ilaç kombinasyon tedavisi ile ilgili şu anki veriler yetersiz ve eksiktir. İlaçları kombine ederek yapılan ağrı tedavisi tamamen ampiriktir ve ana prensip olarak ilaçların yan etkilerinden ziyade ek tedavi edici etkileri göz önüne alınarak ilaçlar seçilmektedir. Etkin yanıt olasılığını arttırmak veya kullanılan ilaçların etkili dozuna ulaşmak için tedavinin başlangıcında da kombinasyon tedavisi uygulanabilir. Kombinasyon tedavisinin dezavantajları arasında, ilaç sayısı çoğaldığından yan etki riskinin artması ve yan etkilerden hangi ilacın sorumlu olduğunu belirlemedeki güçlük sayılabilir^{62,85}.

2.3.2.1.6.5. Non Streoid Antiinflamatuvar (NSAİ) İlaçlar

NSAİ ajanlar özellikle polifarmasi uygulanan hastalarda sıklıkla kullanılmaktadır. NSAİ ajanlar geleneksel olarak nöropatik ağrıda kullanılmazlar çünkü nöropatik ağrı genellikle asetaminofen ve NSAİ ilaçlara dirençlidir^{65,88}. Nöropatik ağrıda en iyi yönetim multidisipliner yaklaşımdır. Tedavide ilk olarak yan etkileri en düşük ajanlar kullanılmalıdır. Basit analjezikler (asetaminofen ve NSAİ) pür nöropatik ağrıda genellikle etkisizdir fakat yandaş nosiseptif durumlarda (siyataljide muskuloskeletal bel ağrısında) yararlı olabilir⁸⁹. Yayımlanan büyük hasta sayılı tarama çalışmalarında nöropatik ağrıda başlıca yönetimin, hala çok etkili nöropatik ağrı tedavisi ilaçlarının yerine parasetamol ve NSAİ gibi konvansiyonel analjeziklerle yapıldığı gösterilmiştir.^{90,91} Yine nöropatik ağrıda konvansiyonel analjeziklerin yaygın kullanımı birçok çalışmada rapor edilmiştir^{88,92,93}. Nöropatik komponent içeren bel ve boyun ağrıları gibi mikst ağrılı nöropatik hastalıklarda, diyabetik nöropati veya postherpetik nevralji gibi pür ağrılı nöropatik hastalıklarla karşılaştırıldığında NSAİ ve opioid kullanım oranı daha yüksek saptanmıştır⁹¹. Özellikle mikst ağrılı nöropatik hastalıklarda nöropatik ağrının tanısı zordur. Hastaların 1/3 ten fazlasında kronik nosiseptif ağrı durumları mevcuttur ve nosiseptif ağrı komponenti, nöropatik ağrı komponentinin baskılanmasına neden olur. Bu nedenle nosiseptif komponentin ilk tedavi seçeneği olan NSAİ ilaçlar bu hastalarda daha fazla kullanılmaktadır. Mikst ağrılı nöropatik hastalıklarda NSAİ ile birlikte spesifik ajanlar da kombine edilmelidir⁹¹. Gilron ve ark, nöropatik ağrılı hastaların %25'inde yaşamları boyunca nöropatik ağrıda etkili ilaçların

denenmediğini ve bu hastaların %73'ünde keza parasetamol veya NSAİ kullanan hastaların yarısında yeterli ağrı kontrolü sağlanamadığını saptamışlardır⁹³. Yeterli ağrı palyasyonu sağlayamamasına rağmen konvansiyonel ilaçların nöropatik ağrıda yaygın kullanımını birçok hastanın kombinasyon tedavisi almasına bağlıdır.

2.3.3. Nöropatik Ağrıda Nörostimülasyon Tedavisi

Nörostimülasyon tedavisi birçok durumda mevcut medikal tedaviye ek olarak artan sıklıkla kullanılmaktadır⁹⁴. Ağrı tedavisinde önerilen nörostimülasyon teknikleri aşağıda sıralanmıştır.

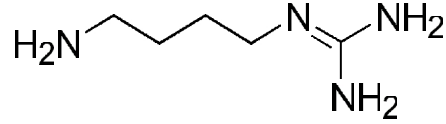
- Transkutanöz elektriksel sinir stimülasyonu (TENS),
- Periferik sinir stimülasyonu (PNS),
- Sinir kökü stimülasyonu (NRS),
- Spinal kord stimülasyonu (SCS),
- Derin beyin stimülasyonu (DBS),
- Epidural motor korteks stimülasyonu (MCS)
- Tekrarlayan transkraniyal manyetik stimülasyon (rTMS) uygulamalarıdır⁹⁴.

Bu teknikler, girişimsellik, uyardıkları yapılar ve uygulamaların dayandığı temeller açısından birbirlerinden çok farklılık gösterirler.

2.4. AGMATİN

2.4.1. Genel Bakış

Agmatin maddesinin ilk keşfi aslında 20. yüzyılın başlarına dayanmaktadır. İlk kez 1910 yılında kurtçuk, balık, bitki ve bakterilerde varlığı gösterilmiştir. 1980’li yıllara kadar fonksiyonel önemi ile ilgili pek fikir olmayan agmatinin daha sonra adipositlerde antilipolitik etki gösterdiği, sempatik gangliyon ve retina da nikotinic asetilkolin reseptörlerini bloke ettiği, pankreasın β -hücrelerinden insülin salınımını kontrol ettiği, sıçan ve tavşanda sempatik aktiviteyi arttırdığı, adrenal kromafin hücrelerinden katekolamin salınımını kontrol ettiği, hipotalamus ve hipofizden lüteinize edici hormon salıverici hormon (LHRH) salınımına neden olduğu, gastrik asit sekresyonunu arttırdığı, vasküler düz kas hücrelerinde proliferasyonu inhibe ettiği ve böbrekte nöroprotektif olduğu gibi birçok etkisi gösterilmiştir^{95-97,131}. Bu konudaki çalışmalar devam ederken 1994 yılında Science dergisinde agmatinin beyinde sentezlenen endojen bir madde olduğu ve antihipertansif olarak tanıdığımız klonidini bağılandığı bölgeden uzaklaştırabilen bir madde olduğunun tanımlanması şüphesiz bir dönüm noktası olmuştur^{98,131}. Daha sonraki yıllarda klonidin, moksonidin, rilmenidin gibi sempatik tonusu azaltan, plazma katekolaminlerini azaltarak kan basıncını düşüren α_2 -adrenoseptör ligandlarının bazı etkilerinin (trombosit agregasyonunun blokajı, mide asit sekresyonunun stimülasyonu gibi) α_2 -adrenoseptör antagonistleri ile bloke edilemezken simetidin ile engellenebilmesi bu konuda ikinci önemli aşamayı başlatmıştır¹³¹. O güne kadar sadece α_2 -adrenoseptörlere bağlanarak etki oluşturan bu ilaçların adrenerjik olmayan bağlanma bölgelerine bağlandıkları gösterilmiş ve daha sonra da bu bölgelere “imidazolin bağlanma bölgeleri” veya “imidazolin reseptörleri” denmiştir. İmidazolin reseptörleri hem santral hem de periferik olarak yaygın bir dağılım göstermekte dolayısıyla bu sistemlerle ilişkili bir dizi cevaba aracılık etmektedir^{99,100,131}. Bu madde hem imidazolin reseptörlerine hem de α_2 -adrenerjik reseptörlere bağlanabilme özelliğine sahipti. Yapısı daha sonra açıklanmış ve bu madde “agmatin” olarak adlandırılmıştır (Şekil 1)^{101,131}.



Şekil 1. Agmatin'in kimyasal yapısı.

Agmatin çeşitli organlarda, dokularda ve serumda yaygın ve düzensiz bir dağılım gösterir. En fazla mide, aorta, ince bağırsak, adrenal bez, kalp, beyin, kalın bağırsak ve plazmada bulunduğu gösterilmiştir, beyindeki konsantrasyonu nispeten düşüktür (Tablo 2)¹⁰². Agmatin günlük hayatta tükettiğimiz deniz ürünleri başta olmak üzere birçok gıdada mevcuttur¹⁰³.

Tablo 2. Agmatin'in çeşitli dokularda dağılımı.

Doku	Agmatin (ng/g doku)	Doku	Agmatin (ng/g doku)
Mide	71,00	Böbrek	6,45
Aorta	57,41	Kalp	6,03
İnce barsak	55,35	Karaciğer	5,63
Kalın barsak	27,86	İskelet kası	5,30
Dalak	17,38	Beyin	2,40
Akciğer	10,23	Testis	2,04
Adrenal	6,97	Plazma	2,45

Agmatinin biyolojik etkileri araştırılırken elde edilen bulgular yeni bir nörotransmitter veya nöromodülatör olabileceğini düşündürmüştür. Agmatin santral sinir sisteminde nörotransmitter veya nöromodülatör olma kriterlerinin çoğuna uyum göstermektedir. Bu kriterler;

- ❖ Beyinde lokal olarak arjinin dekarboksilaz enzimi aracılığıyla sentezlenmektedir¹⁰¹.
- ❖ Santral sinir sistemindeki pek çok nöronda depolanmaktadır^{104,105}.
- ❖ Akson uçlarında küçük veziküllerde bulunmakta ve hipokampusta piramidal hücreler üzerinde asimetrik eksitator sinapslar yapmaktadır¹⁰⁵.
- ❖ Sinaptozomlardan Ca⁺² bağımlı olarak salınmaktadır¹⁰⁶.

- ❖ Sinaptozomlarda agmatinaz tarafından enzimatik olarak parçalanmaktadır¹⁰⁶.
- ❖ Selektif geri alım ile inaktive edilmektedir¹⁰⁷.
- ❖ Santral olarak uygulandığında sistemik etkileri vardır¹⁰⁶.

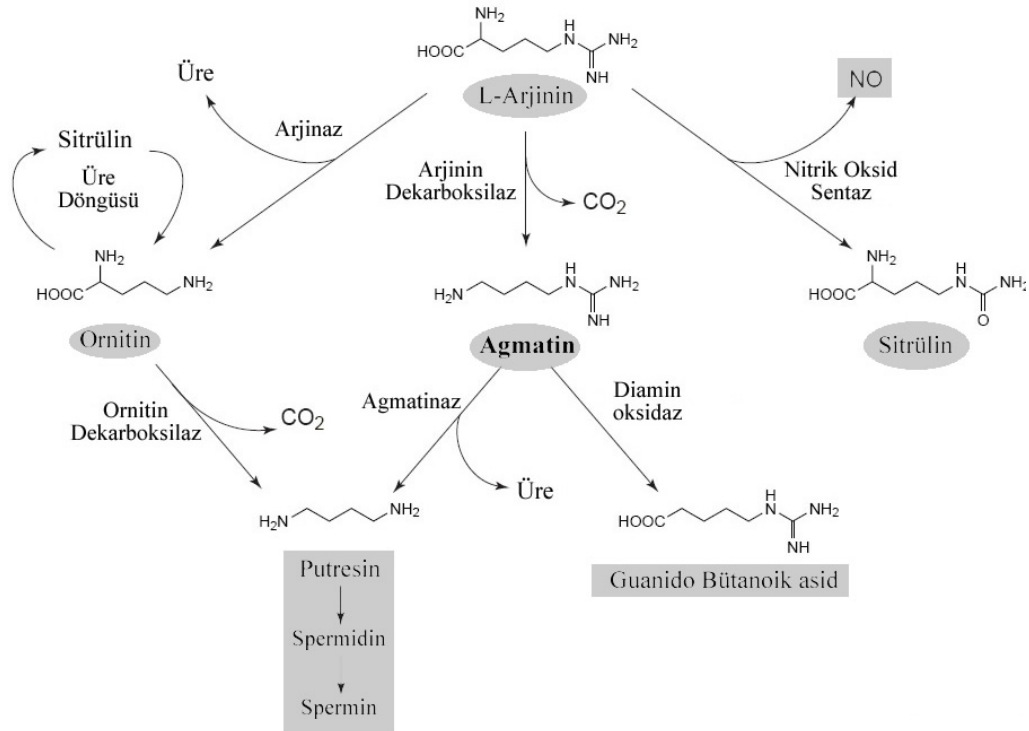
Agmatinin beyindeki konsantrasyonu diğer bazı nörotransmitterlerle kıyaslanabilecek düzeydedir⁹⁸. Agmatinerjik nöronlar özellikle üst beyin sapı ve hipotalamusta oldukça yaygın bulunur. Alt beyin sapında ise nükleus traktus solitarii, pontine parabrachial kompleks ve periventriküler alanlar olan laterodorsal nükleus, locus coeruleus, nükleus raphe dorsalis ve periakvaduktal gri maddede lokalizedirler. Hipotalamusta immünoreaktif nöronlar büyük oranda dorsomedial nucleus, paraventriküler nucleusun parviselüler ve periventriküler bölgelerinde, supraoptic, perifornical, supra mamiller ve ventral premamiller nükleus'de ve posterior hipotalamik bölgede yoğunlaşmışlardır. Daha az sayıda nöron ise arcuat nükleus ve lateral hipotalamik alanın kaudal kısmında bulunmaktadır. Ön beyindeki nöronlar amigdala, septum, stria terminalis ve orta talamusta yer almaktadır⁹⁵.

Agmatinle işaretli nöronlar hipokampusda geniş oranda piramidal hücrelerde bulunmuştur. Elektron mikroskopisi ile bakıldığında, piramidal hücrelerin mitokondri ve tübüler vezikülleri içinde sitoplazmada konsantre oldukları gösterilmiştir. Agmatinin primer olarak akson ve akson terminallerindeki küçük sinaptik veziküllerde bulunduğu gösterilmiştir^{105,108}. Hipokampusta agmatin presinaptik terminallerde konsantre edilmekte ve eksitatör sinapslar yapmaktadır. Hipokampustaki sinapsların büyük çoğunluğu glutamaterjik olduğundan bu bulgulara dayanarak, en azından bu sistem içinde agmatinin glutamatla kolokalize olduğu gösterilmiştir¹⁰⁹. Agmatin ayrıca astrositlerde, nöronal bağlantılı hücrelerde ve adrenal medullanın kromafin hücrelerinde bulunur¹⁰⁴.

2.4.2. Metabolik Sentez ve Salınımı

Agmatin L-arjininden, arjinin dekarboksilaz (ADC) enzimi aracılığıyla sentezlenen bir amindir (Şekil 2). 1995 yılında Regunathan ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada ADC'nin sıçan beyinde eksprese edildiğinin gösterilmesiyle, agmatinin memelilerde de sentezlendiği ve enterik bakteri veya diyet kaynaklı olmadığı anlaşılmıştır. ADC, memelilerde hücre membranına bağlı olarak bulunur ve özellikle de

mitokondri membranında daha yoğundur^{98,101,110}. İlk araştırmacıların enzimi saptayamamalarının nedeni, enzimi çözünür memeli dokularında aramalarıdır. ADC beyinde en fazla striatum ve beyin sapında, en az ise kortekste bulunmaktadır. Memelilerdeki ADC aktivitesi Mg^{+2} tarafından artırılmakta, Ca^{+2} tarafından inhibe edilmektedir. Diğer iyonlar ise ADC aktivitesini değiştirmemektedir. Kan damarlarında, agmatinin endotel ve düz kas hücrelerinde depolandığı, fakat sadece endotelde ADC eksprese edildiği bilinmektedir. Sinaptozomlarda ADC aktivitesine rastlanılması, agmatinin büyük olasılıkla nöronlarda eksprese edildiğini düşündürmektedir. Glia hücrelerinde de ADC aktivitesinin olduğu gösterilmiştir. Ayrıca agmatinin sentez edildikten sonra nöronal ve glial havuzlar arasında transfer edildiği bilinmektedir. Diğer transmitterler gibi sinaptozomlardan depolarizasyonla Ca^{+2} bağımlı olarak salınmaktadır^{104,113}.



Şekil 2. Agmatin'in sentez ve metabolizması¹⁰⁶.

2.4.3. İnaktivasyonu

Agmatinin beyindeki biyolojik inaktivasyonu, enzimatik parçalanma ve geri-alınım ile olmaktadır. Detaylarına aşağıdaki başlıklarda yer verilmiştir.

2.4.4. Enzimatik Parçalanma

Agmatinin enzimatik parçalanmasında rol oynayan enzim, agmatinaz (Agmatin üre hidrolaz)'dır. Bakterilerde ana metabolik yol, agmatinin bu enzim aracılığıyla putresin ve üreye dönüştürülmesidir. Çözünebilir bir enzim olan agmatinazın memeli beyinde de eksprese edildiği gösterilmiştir. Agmatinaz en çok hipotalamus ve hipokampusta ve en az da korteks ve striatumdadır. Bölgesel ADC ve agmatinaz konsantrasyonları benzer değildir, belki de agmatin metabolizması bölgesel olarak seçicilik göstermektedir. Agmatinin, agmatinaz ile putresine dönüşmesi, ornitinin, ornitin dekarboksilaz (ODC) aracılığıyla putresine dönüşmesi ile paralellik gösterir. Ancak ornitinden ODC aracılığıyla putresin oluşumunun, sadece memelilerde gerçekleştiğine inanılmaktadır. Putresinden spermin ve spermidin oluşur. Putresin, poliamin biyosentezinde metabolik bir prekürsör olduğu için, dolayısıyla agmatin de önemli moleküllerin metabolik prekürsörü durumundadır (Şekil 2). Bu nedenle agmatin-putresin kaskadının, memelilerde poliamin sentezi için özel bir metabolik yolak olduğu düşünülmektedir. Birçok çalışmada, agmatinin yıkım ürünleri olan spermidin ve sperminin şizofreni hastalarının beyinlerinde, beyin-omurilik sıvılarında ve kanlarında yüksek oranlarda bulunduğu gösterilmiştir¹¹¹. Uzbay ve ark. çalışmasında agmatin ve poliamin yolağının şizofreni başta olmak üzere akustik irkilme refleksinin ön uyaran aracılı inhibisyon'undaki bozulma ile karakterize psikiyatrik hastalıkların tanı ve tedavisine yönelik yeni, önemli ve üzerinde araştırma yapılmaya değer bir alan olduğuna işaret etmektedir¹¹¹. ADC ve agmatinazın spesifik inhibitörlerinin bulunmaması agmatinin beyindeki fonksiyonunun araştırılmasını kısıtlamaktadır. Agmatinin yıkılmasını sağlayan bir diğer enzim ise diammin oksidaz enzimidir. Agmatin bu enzim ile guanido bütanoik asite dönüşmektedir¹¹².

2.4.5. Geri-Alınım

Geri-alınım çalışmaları, sıçan beyninden hazırlanan sinaptozomlarda radyoaktif işaretli agmatinin birikmesinin ölçümü ile yapılmıştır¹¹³. Agmatinin geri-alınımı,

sıcaklığa bağlıdır ve sadece yüksek konsantrasyonlarda doyumluğa ulaşabilir. Na^+/K^+ -ATPaz inhibisyonu ya da ekstraselüler Na^+ replasmanından etkilenmemektedir. Agmatinin taşıyıcılarına bağlanmak için yarışma şekli incelendiğinde geri-alınımının noradrenalin, dopamin, serotonin ya da yapısal benzer amino asit taşıyıcıları ile olmadığı, başka bir taşıyıcı sistem ile sağlandığı düşünülmektedir. Gerçi, agmatinin bir amin olması ve poliaminlerin öncüsü olmasına rağmen, geri-alınımı poliaminlerden de farklıdır. Çeşitli iyon kanalı modülatörlerinden sadece Ca^{+2} kanal blokörleri bu geri alınımı inhibe eder. İdazoksan ve fentolamin gibi imidazolin reseptörleri ile etkileşen ilaçlar, geri-alınımın güçlü yarışmasız inhibitörleridir¹⁰⁸. Sinaptozomlar aminoasit, poliamin veya monoamin taşınmasından farklı bir mekanizma ile agmatini geri alıp konsantre ederler. Bu transport şeklinin sodyum ve enerji bağımlı olduğu düşünülmektedir. Agmatin, hücreye ligandla kenetli iyon kanallarının voltaja bağımlı olarak çalışması ile de girebilir. Bu konudaki ilk bulgular bir yumuşakça olan *Hemissenda crassicornis*'in sempatik ganglionundaki nikotinik reseptörler ve tavuk retinasında yapılan çalışmalardan elde edilmiştir¹⁰⁸.

2.4.6. Agmatin'in Etkileştiği Reseptörler

Agmatin çeşitli reseptörle etkileşerek periferik ve santral sinir sisteminde birçok fonksiyonun düzenlenmesinde rol alır (Şekil 3)¹³¹.

2.4.6.1. α_2 Adrenerjik Reseptörler

Agmatin, α_2 adrenerjik reseptörlerin tüm alt tiplerine yüksek afinite ile bağlanmakta, α_1 ve β adrenerjik reseptörlere ise bağlanmamaktadır¹¹⁴. Agmatin periferik olarak adrenerjik fonksiyonu modüle edebilmektedir. Sıçan kuyruk arterinde yapılan çalışmalarda, agmatinin izole arteriyel halkalar üzerine direkt etkisi olmazken, α_2 agonistlerden klonidinin oluşturduğu kontraksiyonları inhibe ettiği gösterilmiştir. Agmatinin tüm etkileri kavşak öncesi düzeyde olmaktadır, çünkü eksojen noradrenaline vasküler cevabı değiştirememiştir. Agmatin'in transmural sinir stimülasyonu kaynaklı kontraksiyonları inhibe edici etkisi α -yohimbin veya idazoksanla engellenmekte, bu da etkinin presinaptik α_2 adrenerjik reseptörler aracılığıyla olduğunu düşündürmüştür. Agmatin'in transmural sinir stimülasyonu kaynaklı kontraksiyonları artırıcı etkisi ise

kokain tarafından engellenmiş bu da agmatin'in noradrenalin taşıyıcısı üzerinde inhibitör etkisi olabileceğini düşündürmüştür¹¹⁵.

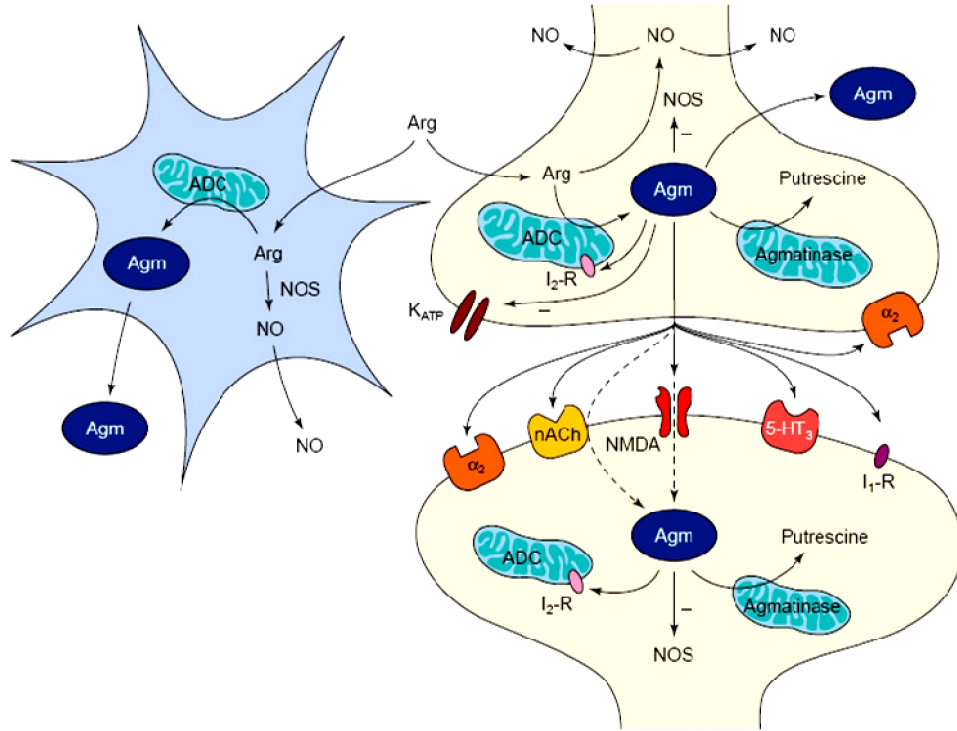
2.4.6.2. Ligandla Açılıp Kapanan Katyon Kanalları

Agmatin organik bir katyon olarak, ligandla açılıp kapanan reseptörlerle etkileşen bazı iyon kanallarından geçebilmektedir. Bu konudaki ilk bulgular bir yumuşakça olan *Hemissenda crassicornis*'in sempatik gangliyonda ve tavuk retinasında nikotinic reseptörlerle yapılan çalışmalarda elde edilmiştir. Sıçan sempatik gangliyonda ve tavuk retinasında agmatin nikotinic kolinerjik reseptörlerin zayıf bir antagonistidir. Ayrıca, kolinerjik nikotinic reseptörlerle ilişkili ligand kapılı Ca^{+2} kanallarından da nörona girebilmektedir¹¹⁶.

Agmatin glutamat reseptörlerinin N-metil-D-aspartat (NMDA) alt tipi üzerindeki etkisinin araştırılması ile önemli sonuçlara ulaşılmıştır¹⁰⁹. Sıçan serebral korteksinde agmatin NMDA kanal antagonisti olan dizosilpin bağlanmasını engellemiştir. Sıçan hipokampal piramidal nöronları üzerinde yapılan kültür çalışmalarında, bu nöronların veziküller agmatin taşıyan aksonlarca inerve edildiği gösterilmiştir¹⁰⁵. Ekstraselüler olarak bu kültür ortamına agmatin uygulanmasının voltaj ve konsantrasyon bağımlı NMDA akımını engellediği, AMPA (alfa-amino-3-hidroksi-5-metil-4-izoksazolpropiyonat) ve kainat akımlarını değiştirdiği saptanmıştır¹⁰⁹. Bu çalışmalarda agmatinin, NMDA reseptör kanalı içinde bir bölgeye bağlandığı gösterilmiştir. NMDA reseptörünü modüle etme açısından agmatin diğer poliaminlerden farklıdır. NMDA akımlarını hızlandıran endojen bir poliamin olan sperminden farklı olarak, agmatin akımı inhibe etmektedir. İkinci fark yapı etki çalışmalarında ortaya çıkmış ve agmatindeki amino yapısının değil de guanidino yapısının reseptör blokajı için gerekli olduğu gösterilmiştir. Son olarak da spermin, NMDA akımını agmatin veya sentetik bir guanidino bileşiği olan arkain (1,4-butilguanidin) varlığında dahi güçlendirmektedir. Bu da guanidin taşıyan bileşikler olan agmatin ve arkainin NMDA reseptörü üzerinde poliamin bağlanma yerinden farklı bir bölgeyle etkileştiklerini göstermiştir. Agmatinin NMDA reseptörü üzerinde bloke edici etkisi mikromolar konsantrasyonların kullanılması ile mümkündür. Bu konsantrasyon reseptörlerin agonist/antagonistleri için yüksek bir konsantrasyon kabul edilmektedir. Endojen ligandların, örneğin

monoaminlerin bu veya daha yüksek konsantrasyonlarda etkili oldukları iyi bilinmektedir¹⁰⁸.

Agmatin yukarıda sözü edilen reseptörlerin dışında imidazolin reseptörlerinin endojen ligandı kabul edilir ve bu reseptörün bütün alt tiplerine (I₁, I₂ ve I₃ -nonI₁-I₂) yüksek afinite ile bağlanır. Ayrıca kolinerjik nikotinik ve serotonerjik 5-HT reseptörleri gibi iyonotropik reseptör kanallarını da bloke ettiği bildirilmiştir^{106,117}.



Şekil 3. Agmatin içeren bir nöronun sinaptik olarak gösterilmesi¹³¹.

Arjinin (Arg) sinir terminaline girerek mitokondriyal arjinin dekarboksilaz (ADC) aracılığıyla agmatin veya sitoplazmik nitrik oksit sentaz (NOS) aracılığıyla nitrik oksit (NO) oluşumunda substrat olarak yer alır. Nöronda nöronal NOS (nNOS) aracılı bu mekanizma glial hücrelerde indüklenebilir NOS (iNOS) ve periferde düz kaslı yapılarda endotelial NOS (eNOS) aracılığıyla gerçekleşir. Agmatin nöron veya glialarda sentezlenmekte, sinaptik veziküllerde depolanmakta, sinaptik aralığa salınmaktadır. Salınan agmatin presinaptik membranda bulunan α_2 adrenerjik ve

imidazolin reseptörlerine bağlanarak noradrenalin salınımını düzenleyebilir veya postsinaptik membranda bulunan α_2 adrenerjik, imidazolin (I_1 -R), NMDA, nikotinik (nACh) ve 5-HT reseptörlerine bağlanabilir¹¹⁷.

2.4.7. Agmatin ve Nitrik Oksit Sentaz

Agmatin, NOS'un bütün izoformlarını inhibe etmektedir. Bu inhibisyon doza bağımlı ve substrat olan L-arjinin ile yarışmalıdır. Agmatinin NOS'a afinitesi L-arjininden belirgin olarak daha az olmasına ve dokuda belirgin bir inhibisyon oluşması için agmatinin L-arjininden daha yüksek konsantrasyonda uygulanmasının gerekmesine rağmen nöronun katalitik bölgesinde agmatin konsantrasyonu fizyolojik olarak yeterli olabilmektedir. Bu özellikle nöronal NOS (nNOS) sentezleyen nöronlar için geçerli görünmektedir. Serumda bulunan agmatinin glial hücrelere girip indüklenebilir NOS (iNOS) ekspresyonunu ve aktivitesini de düzenlediği gösterilmiştir. Agmatinin beyinde ve böbrekte NO oluşumunu inhibe ederek nitrik oksit sentaz yolağını etkilediği gösterilmiştir. Agmatin ve NOS enziminin hücresel kolokalizasyonu, bu aminin NO üretiminin endojen bir modülatörü olduğunu ve agmatinin oluşturduğu birtakım biyolojik etkilerin NO sistemi ile etkileşimle meydana gelme olasılığını güçlendirmektedir¹¹⁸. En güçlü inhibisyonu ise iNOS (indüklenebilir nitrik oksit sentaz) üzerinde oluşturmaktadır¹¹⁸. L-arjininin guanidin gruplarını oksitleyerek NO sentezler. L-arjinin analogu olan agmatinin de guanidin grupları içermesi, agmatinin NOS için bir substrat olabileceğini ve agmatinden NO sentezlenebileceğini düşündürmüştür. Ancak daha sonradan yapılan çalışmalarla, agmatinin NO için bir prekürsör olmadığı gösterilmiştir¹¹⁸. Agmatin, NOS'u doza bağımlı olarak inhibe eder ve enzimin katalitik bölgesine bağlanmak için L-arjinin ile yarışır. Afinitesi L-arjininden daha düşük olduğundan, etkili bir yarışma için L-arjininden daha yüksek konsantrasyonlarda bulunması gerekir. Ancak özellikle nNOS (nöronal nitrik oksit sentaz) sentezleyen nöronların katalitik bölgesinde, agmatin konsantrasyonunun fizyolojik olarak yeterli olduğu gösterilmiştir^{105,119}. L-arjinin ve agmatinin farklı organlardaki dağılımı karşılaştırıldığında, dokularda L-arjininin agmatine göre 4 ila 50 kat daha fazla olduğu görülmüştür. Bu nedenle agmatinin NOS aktivitesi üzerinde zayıf bir regülatör etkisinin olduğu düşünülmektedir. Agmatin bazı durumlarda, arjinin için daha etkili bir yarışmaya girer. Örneğin sıçanlarda aortanın iskemik hasarından sonra agmatin

miktarının 20 kat arttığı gösterilmiştir. Agmatin'in, beyin ve böbrekte NOS'u inhibe ederek NO oluşum yolağını etkilediği bilinmektedir¹¹⁸. Serumda bulunan agmatinin ise glial hücrelere girerek iNOS ekspresyonunu ve aktivitesini düzenlediği gösterilmiştir (Şekil 3). Agmatin ve NOS enziminin hücre içinde birlikte bulunmaları, bu aminin NO üretiminin endojen bir modülatörü olma olasılığını güçlendirmektedir. Ayrıca agmatin'in bazı biyolojik etkilerinin, NO sistemi ile etkileşim sonucunda meydana geldiği düşünülmektedir¹¹⁹.

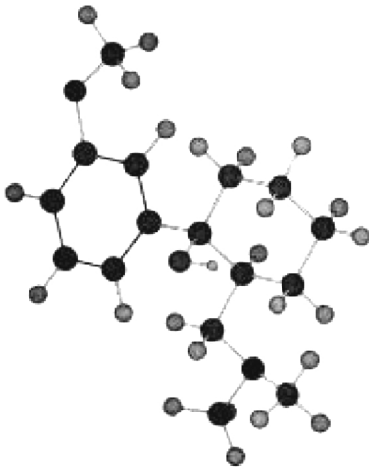
2.4.8. Agmatin'in Biyolojik Etkisi

Agmatin'in çoğu merkezi sinir sistemi üzerine olmak üzere birçok etkisi gösterilmiştir¹³¹. Adrenal medullanın kromafin hücrelerinden adrenalın ve noradrenalin salınımını, pankreasın adacık hücrelerinden insülin salınımını, hipotalamustan LHRH ve gastrin sekresyonunu uyarır, vazopressin salınımını inhibe eder^{96,97}. Morfine tolerans gelişimini engellediği, morfin yoksunluk sendromunun tüm semptomlarını baskıladığı gösterilmiştir¹²⁰⁻¹²³. Akut ağrı modellerinde hem spinal hem de supraspinal düzeyde analjezi sağladığı, nöropati gibi ağrı modellerinde termal ve mekanik hiperaljeziyi azalttığı^{124,126-128} antiinflamatuvar^{119,129} ve ayrıca morfinin oluşturduğu analjezik etkiyi potansiyelize ettiği gösterilmiştir¹³⁰. Antikonvülsan^{126,133,134,136} anksiyolitik, anti-stres ve antidepresan^{132,137} etki potansiyeline sahip olduğu, iskemide ve eksitotoksistide nöron kaybını azalttığı¹³⁸⁻¹⁴⁰ gösterilmiştir.

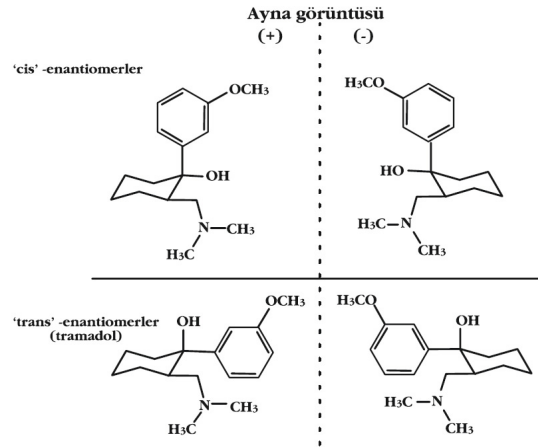
2.5. TRAMADOL

2.5.1. Genel Bakış

Tramadol hidroklorür, santral etkili sentetik bir analjeziktir (Şekil 4)¹⁴³. Analjezik sınıflamasında zayıf opioid grubunda yer alan tramadol aslında hem opioid hem de nonopioid etki mekanizmasına sahip çift etkili ilginç bir ilaçtır. Zayıf μ -opioid reseptör agonist etkisine ek olarak noradrenalin (NA) ve serotoninin (5-HT) presinaptik geri alınımını inhibe etmekte, aynı zamanda 5-HT'nin salınımını stimüle etmektedir¹⁴¹. Böylece endojen analjezi sistemini hem opioid agonist mekanizma ile hem de monoaminerjik etkisi ile potansiyelize etmektedir. Bu özelliği ile tramadol'un, analjezik/adjuvan etkiyi bir arada içerdiği düşünülebilir. Bu iki mekanizma ile elde edilen aditif etkinin, antinosisepsiyonda belirgin, yan etkide daha az olması, tramadol'un orta şiddetli kanser ve kanser dışı akut ve kronik ağrının tedavisinde yaygın kullanımının nedeni olmuştur^{144,157}.



Şekil 4. Tramadol'un atom modeli yapısı^{143,157}.



Şekil 5. Tramadol'un enantiomerleri^{143,157}.

2.5.2. Farmakoloji

Tramadol, her biri farklı mekanizmaya sahip iki enantiomerden oluşan bir rasemik karışımdır [(+/-) tramadol]: (+) tramadol, (-) tramadol (Şekil 5). Her bir enantiomer farmakolojik olarak aktiftir ve analjezik etkinlikte pay sahibidir. (+) tramadol ve metaboliti O-desmetiltramadol (M1), opioid agonist etki ve serotonin geri alımını inhibisyonuna sebep olurken, (-) tramadol noradrenalinin geri alımını inhibisyonuna yol açmaktadır^{141,142}. Analjezik etkinlikte (+) tramadol, (-) tramadolden 10 kat daha aktiftir^{145,157}.

2.5.3. Etki Mekanizmaları-Antinosiseptif Etki-Opioid Mekanizma

Tramadol opioid agonist etkisini mü (μ) opioid reseptörlerine zayıf, delta ve kappa opioid reseptörlerine daha da zayıf olarak göstermektedir (Tablo 3)^{141,143,157}. Mü reseptör affinitesi kodeinden 10 kez, dekstrapropoksifenden 60 kez ve morfinden 6000 kez daha azdır¹⁴¹. Opioid analjezik etkinlik esas olarak ana molekülün aktif metaboliti olan O-desmetil tramadol (M1) ile sağlanır. M1 metabolitinin μ -reseptör affinitesi ana molekülden 200 kat daha fazladır¹⁴⁶.

Tablo 3. Tramadol'un, enantiomerlerinin, aktif metabolitinin (M1) ve diğer bileşiklerin invitro aktiviteleri¹⁴³.

Bileşik	μ	-	-	5-HT	NA
Morfin	0.00034	0.092	0.57	-	-
Kodein	0.2	5.1	6.0	-	-
İmipramin	3.7	12.7	1.8	0.021	0.0066
Tramadol	2.1	57.6	42.7	0.99	0.78
(+) Enantiomer	1.3	62.4	54.0	0.53	2.51
(-) Enantiomer	24.8	213	53.5	2.35	0.43
(±) M1	0.0121	0.91	0.24	5.18	1.52

* Ki değeri ne kadar düşük olursa, reseptör affinitesi o kadar büyüktür.

2.5.3.1. Monoaminerjik Mekanizma

Tramadol, serotoninin geri alınımını inhibe ederken aynı zamanda presinaptik direkt salınımını da artırır. Molekülün bu etkisi (+) enantiomerde belirgindir. Buna karşın (-) enantiomer NA geri alınımını daha fazla inhibe eder^{141,143,157} (Tablo 3). Bu

monaminlerin geri alınım mekanizmasını bloke edici etkisi ile tramadol, santral sinapslarda NA ve 5-HT'nin seviyelerinin yükselmesine yol açar¹⁷. Tramadol'un monoaminerjik sisteme etkisi opioid etkinliğin görüldüğü konsantrasyonda olmaktadır¹⁴⁴. Bu etkinlik de aynı opioid sisteme olan etkisi gibi düşük derecededir.

Antinosiseptif etkiden tüm mekanizmaların sorumlu olduğu hem hayvanda hem de insanda yapılan çalışmalarda gösterilmiştir. Naloksan ile tramadol'un analjezik etkisi sadece %31 geri döndürülebilmıştır^{141,143,147}. Diğer taraftan α_2 -adrenoreseptör antagonisti olan yohimbin ile ve 5-HT antagonisti olan ritanserinin ile de antinosiseptif etki kısmen giderilebilmiştir^{141,148}.

2.5.3.2. Antidepresan Tip Etki

Tramadol'un monoaminerjik etkisi antidepresan ilaçlar ile benzerdir. Farelerde zorlu yüzme testi kullanılarak yapılan bir çalışmada (+/-) tramadol, (+) tramadol ve (-) tramadol'un antidepresan etkisi sınanmış ve (+/-) tramadol ve (-) enantiomerinin doza bağlı olarak immobilitiyi anlamlı azalttığı (antidepresan tip etki), buna karşın (+) enantiomerin azaltmadığı saptanmıştır¹⁴⁹. Tramadol'un antidepresan benzeri etkisinin serotoninerjik etkinlik ile değil, noradrenerjik sisteme etkisi ile olduğu ileri sürülmektedir. Tramadol'un antidepresan benzeri özelliği imipraminden çok daha zayıftır^{143,157} (Tablo 3). Kronik kullanımda olası antidepresan etkisinin klinik anlamlılığının sınanması için insan çalışmalarına gereksinim vardır.

2.5.3.3. Santral Sinir Sistemi Üzerine Etki

Tramadol'un toksik dozlarda kullanımının konvülziyona neden olduğu, hayvan ve insan çalışmalarında bildirilmiştir. Bu yan etki opioid etkisinden çok, monoaminerjik mekanizma ile meydana gelmektedir. Bu mekanizmada özellikle dopaminin rolü olduğu ileri sürülmektedir¹⁵⁰. Diğer taraftan tramadol'un normal dozlarda da konvülziyona yol açabileceği bildirilmiştir. Ancak terapötik dozlarda tramadol'un kendisi tek başına konvülziyon için yüksek risk oluşturmamaktadır¹⁵¹. Bu olasılık hazırlayıcı faktörlerin varlığında söz konusudur. Tramadol'un yüksek dozda (i.v./oral) uygulanması, epilepsi anamnezinin varlığı, konvülsiyon eşiğini düşüren ilaçlar (monoamin oksidaz inhibitörleri-MAOi, trisiklik antidepresanlar-TCA, serotonin selektif geri alınım inhibitörleri-SSRI) ile beraber kullanımı, hazırlayıcı faktörler olarak

değerlendirilmektedir^{152,153}. Bu nedenle epileptik hastalarda kullanılmamalı, konvülsiyon eşiğini düşüren ilaçlar ile beraber kullanılması gerektiğinde dikkatli olunmalıdır.

2.5.4. Kronik Ağrı ve Tramadol İlişkisi

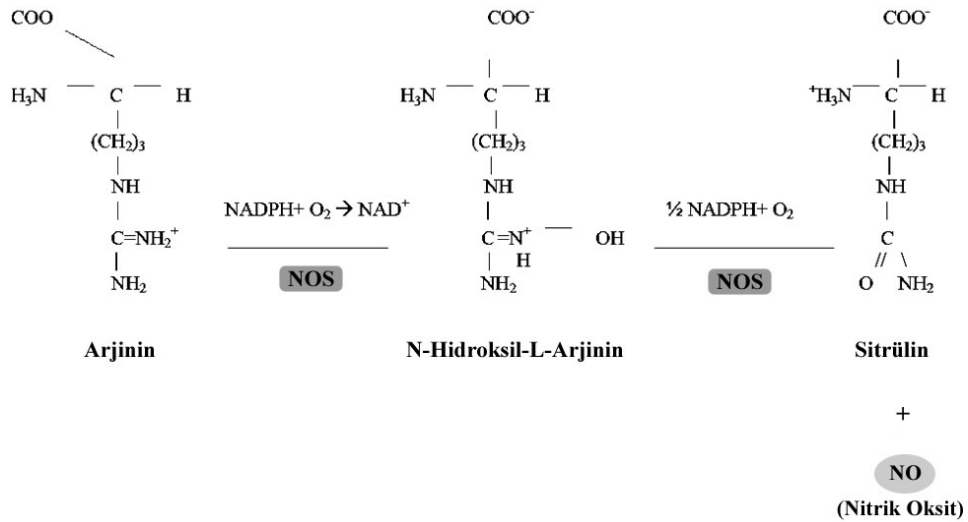
Opioidlerin kanser dışı kronik ağrıda kullanımları uzun yıllar tartışmalı kalmıştır. Ancak günümüzde gerek zayıf opioidler için, gerekse güçlü opioidler için doğru hastada ve doğru dozda kullanılması koşulu ile böyle bir çekince kalmamıştır. Opioidler Dünya Sağlık Örgütü'nün (DSÖ) 1986 yılında belirlediği “Analjezik Kullanım İlkeleri” doğrultusunda yaygın olarak kullanılmaktadır. Tramadol önceleri, bir zayıf opioid olarak 2. basamakta yerini almış ve solunum depresyonu, konstipasyon, bağımlılık gibi olası opioid yan etkilerinin az olması ile iyi bir seçenek olmuştur. Daha sonraları saf opioid olmayıp, nonopioid etki mekanizmasına da sahip olduğunun açıklığa kavuşması ile kronik ağrıda özellikle tercih edilmiştir^{156,157}. Tramadol diğer tedavilere paralel olarak multidisipliner yaklaşımın tamamlayıcı bir ögesi olarak kullanılabilirliği gibi, tüm alternatif tedaviler denendiği halde analjezi yetersiz ise gündeme gelmelidir. Kronik ağrının tedavisinde tramadolden alınan olumlu sonuçlar, iki ayrı analjezik etki mekanizmasının birbirini tamamlamasına dayandırılmıştır^{154,155}. Tramadol nöropatik ağrı (diyabetik nöropati, postherpetik nevralji), somatik ağrı (osteoartirit, fibromiyalji), visseral ağrı (kronik pankreatit) gibi birçok kanser dışı kronik ağrılı durumlarda etkin olarak kullanılmaktadır. Sindrup ve ark. kronik ağrılı polinöropatide tramadol'un ağrı, parestezi ve allodini sağaltımında etkin olduğunu saptamışlardır⁷⁸.

Nöropatik ağrı sağaltımında yer alan 1. basamak tedavisindeki ilaçların etkili olmadığı ya da iyi tolere edilemediği durumda, tramadol hidroklorür ile monoterapiye başlanması⁸⁹ ya da ciddi nöropatik ağrı ataklarında ve kansere bağlı nöropati sağaltımında kullanılması önerilmektedir⁸⁵. Tramadol hidroklorürün nöropatik ağrı üzerine etkinliği siyatik sinir ligasyonu ile nöropatik ağrı modeli oluşturulan sıçanlarda da gösterilmiştir^{15,16}.

2.6. NİTRİK OKSİT

2.6.1. Biyokimyasal Özelliği

Bir serbest radikal olan nitrik oksit (NO) yüksek derecede difüze olabilen, lipofilik bir gaz olup hücrede çok çeşitli fonksiyonları gerçekleştiren, sinir sistemi, immün sistem ve dolaşım sisteminde en önemli parakrin fonksiyona sahip sinyal molekülüdür^{158,159}. NO, memeliler, kuşlar, balıklar, omurgasızlar, hatta bitkiler ve bakterilerde bile sentezlenmekte ve biyolojik etkileri için kullanılmaktadır. NO, steroid hormonlar gibi, plazma zarından direkt olarak geçebilir. NO'nun moleküler çalışma prensibi, steroid hormonlardan farklı olarak, transkripsiyonu aktive eden bir reseptöre bağlanmaktan çok hücre içi hedef enzimlerin aktivitesini değiştirmektir. NO, arjinin aminoasidinden nitrik oksit sentaz enzimi (NOS) aracılığıyla sentezlenir (Şekil 6). Sentezden hemen sonra hücreden dışarı difüze olan NO, yakındaki hücreleri lokal olarak etkileyebilir. NO, stabil olmayan yapısından dolayı ancak birkaç saniye olan yarı ömrü nedeniyle kısa etki süresine sahiptir¹⁵⁹.



Şekil 6. Nitrik oksitin, NOS enzimi etkisi ile l-arjinin aminoasidinden sentezlenmesi.

2.6.2. Nitrik Oksit Sentaz

NOS enzimleri temel olarak, yapısal NOS (cNOS) ve indüklenebilir NOS (iNOS, NOS II) olarak iki gruba ayrılır. Yapısal NOS denmesinin nedeni bu tip NOS enzimlerinin hücrede normalde bulunuyor olması ve uyarana yanıt vermesi için yeni bir protein sentezine ihtiyaç duymamasıdır. cNOS da kendi içinde endotelial NOS (eNOS, NOS III) ve nöronal NOS (nNOS, NOS I) olarak ikiye ayrılır (Tablo 4). nNOS sinir sisteminde mesajcı fonksiyon görürken eNOS daha çok damar endotelinde gevşeme faktörü olarak fonksiyon göstermektedir. cNOS formları Ca^{+2} /Kalmodulin bağımlıdır. Alt birimlerinden biri kalmodulin (CaM) olmasına rağmen, iNOS, cNOS formlarından farklı olarak aktivitesi için kalsiyuma ihtiyaç duymaz. Normal hücre içi Ca^{+2} derişimi iNOS aktivitesi için yeterlidir. Enzimlerin dokulardaki dağılımı normal ve patolojik durumlarda değişebilmektedir. NOS enzimleri birbirinin aynı iki alt birimden oluşur ve ancak alt birimler bir araya gelip dimer oluşturduklarında katalitik etki gösterirler. Aktivite göstermeleri tamamen koenzime bağılıdır. Aktiviteleri ayrıca CaM, Ca^{+2} /CaM, yağ asitleri ve fosforilasyon-defosforilasyon ile de kontrol edilebilmektedir¹⁶⁰.

Tablo 4. Üç NOS izoformunun karşılaştırması¹⁶⁰.

iNOS	eNOS	nNOS
Tip II NOS	Tip III NOS	Tip I NOS
İndüklenebilir	Yapısal	Yapısal
Ca^{+2} /CaM bağımsız	Ca^{+2} /CaM bağımlı	Ca^{+2} /CaM bağımlı
Aktivitesi yüksektir	Aktivitesi düşüktür	Aktivitesi düşüktür
Aktiviteleri glukokortikoidler tarafından engellenebilir	Aktiviteleri glukokortikoidler tarafından engellenmez	Aktiviteleri glukokortikoidler tarafından engellenmez
Aktivitesi transkripsiyonla belirlenir	Hücrelerde normal şartlarda da bulunmaktadır	Hücrelerde normal şartlarda da bulunmaktadır
Genellikle sitoplazmada bulunur	Hücre zarında bulunur	Genellikle sitoplazmada bulunur
Makrofajlar, nötrofiller, fibroblastlar, mast hücreleri, hepatositler gibi pek çok hücre tipinde sentezlenebilir	Mast hücrelerinde, plateletlerde, pankreasın β -hücrelerinde, damar düz kas hücreleri ve endotelinde bulunurlar	Sinir sistemi, adrenal bez, nonadrenerjik-nonkolinerjik nöronlar ve astrositlerde bulunurlar
LPS, IFN- γ , TNF- α , TNF- β , IL-1, IL-2, lipoteikoik asit ve pikolinik asit tarafından aktive edilebilir	Serotonin ve trombin tarafından aktive edilebilir	Ca^{+2} iyonları, Asetil kolin, bradikinin, histamin, lökotrinler ve PAF tarafından aktive edilebilir
7. kromozomdan transkribe edilir	12. kromozomdan transkribe edilir	17. kromozomdan transkribe edilir

NOS enzimlerinin N-terminal bölgesi sitokrom P450 oksidaza benzerdir. Bu bölge hem-grubu ve arjinin bağlanma bölgesi içerir. Bu bölge ayrıca alt birimler arası etkileşimi de sağladığından dimerizasyondan da sorumludur. Karboksil ucu ise P450 redüktaza benzerdir. Bu bölgede ise nikotinamid adenin dinükleotid (NADPH), flavin adenin dinükleotid (FAD) ve flavin mononükleotid (FMN) koenzimleri için bağlanma bölgeleri bulunur. CaM ise NOS enzimlerine redüktaz ve oksidaz bölgelerinin arasından bağlanır. CaM bağlanması iki bölgenin uygun şekli olarak aktif hale gelmelerini sağlar. Bu bağlanmada, eNOS ve nNOS için Ca^{+2} gerekirken, iNOS'ta Ca^{+2} 'a ihtiyaç duyulmadan gerçekleşmektedir¹⁶⁰.

Her üç NOS tipi de L-arjinin analogları tarafından inhibe edilebilmektedir. Arjinin aminoasidinin guanido grubuna küçük kimyasal grupların eklenmesiyle hazırlanan analoglar, en geniş NOS inhibitör grubunu oluştururlar. Bunların dışında daha büyük alkil grupları içeren analoglar da bulunmaktadır. Bu inhibitörlerden bazıları spesifik bir NOS tipini inhibe ederken bazıları her üç tipi de inhibe etmektedirler¹⁶⁰.

2.6.3. Nitrik Oksit Sentaz İnhibitörleri

Nitrik oksit sentezini katalizleyen enzim olan NOS tanımlanıp L-arjininden NO sentez yolu aydınlatılmaya çalışılırken, L-arjinin analoglarının bu yolu inhibe ettiği görülmüştür. NOS inhibitörü olarak etkileri ilk gözlenen L-arjinin analogu, yapısında metil grubu bulunduran N-monometil-L-arjinindir (L-NMMA veya diğer adıyla LNMA; N-metil-L-arjinin)^{161,162}. L-arjinin aminoasidinin yapısına çeşitli gruplar dahil edilerek değişik L-arjinin analogları oluşturulmuş ve bunların da NO sentezi üzerindeki etkileri araştırılmıştır. L-NMMA dışında N-nitro-L-arjinin (L-NA), N-amino-L-arjinin (L-NAA), N-nitroL-arjinin-metil ester (L-NAME) ve N-iminoetil-l-ornitin (L-NIO)dır. NO sentezini inhibe eden bu L-arjinin analoglarından L-NIO sadece konstitütif izoformlara etki ederken, L-NNA, L-NA, L-NMMA ve L-NAME hem konstitütif hem de indüklenebilen NOS izoformlarını inhibe ederler. L-NIO'nun inhibisyon etkisi en güçlüdür ve bunu geri dönüşümsüz olarak yapar. L-NMMA'nın etkisi geri dönüşümlüdür ve etki gücü açısından L-NIO'dan zayıf, L-NAME ve L-NA'dan güçlüdür^{161,162}. NOS inhibitörlerinin hayvan modellerinde antinosiseptif etkileri gösterilmişse de, periferik sinir sistemi ve omurilik düzeyinde nosisepsiyona NO'in etkisinin değerlendirilmesi oldukça zordur. Alınan farklı sonuçlar kullanılan hayvanın

cinsine ve uygulanan ağrı uyarımına bağlı olabilir¹⁶³. Periferik sinir uçlarının kimyasal olarak uyarılmasıyla oluşan ağrı modellerinde veya termal ve mekanik uyarılarla oluşturulan ağrı modellerinde NOS inhibitörleri antinosiseptif etkiler oluşturmaktadır¹⁶⁴.

2.6.4. Nitrik Oksit ve Sinir Sistemi

Merkezi ve periferik sinir sisteminde NO aracılığıyla gerçekleşen pek çok fizyolojik olay vardır. Memeli deney hayvanlarının ve insan beyninin tüm bölgelerinde NOS enziminin varlığı saptanmıştır. Beyindeki NOS'un kaynağı beyin damarlarının endoteli, mikroglia hücreleri ve beyin arterlerini inerve eden nonadrenerjik-nonkolinerjik vazodilatör sinirlerdir. NO, sinaptik veziküllerde depolanıp ekzositozla salınan bir nörotransmitter değildir. Kısa etki süresi içinde bir nörondan diğerine difüze olur. Guanilat siklaz ve adozin difosfat (ADP) ribozil transferaz enzimlerinin aktif bölgelerindeki demire bağlanarak etki gösterir. Artan cGMP protein fosforilasyonuna neden olur; çözülmüş haldeki proteinler ribozillenir ve bu şekilde nörotransmitter salınımı düzenlenir¹⁶¹. Hafıza oluşumunda NO bir retrograd haberci olarak görev görür. Postsinaptik bölgeden kaynaklanan NOS'un presinaptik etkiyle glutamat salınımını arttırarak sinaptik transmisyonda stabil bir artışa sebep olduğu bulunmuştur¹⁶¹. Periferde NOS'un kaynağı nonadrenerjik-nonkolinerjik sinirleridir ve NO'nun etkisi bu sinirlerin inerve ettiği yerlerde gözlenir¹⁶¹.

Omurilik düzeyinde nosisepsiyonun transmisyonda da NO'in etkili olduğu kabul edilmektedir. NO, omurilik arka boynuzunda nosiseptif bilginin serebral düzeye taşınmasını sağlar. Periferik duyuşal afferentlerin zedelenmesi veya visseral inflamasyon koşullarında omurilik arka boynuzunda NOS enziminde upregülasyon oluşmakta ve NOS'ı inhibe eden veya aktive eden ilaçlar nosisepsiyon yanıtında sırasıyla azalmaya ve artmaya neden olmaktadır¹⁶⁵. Periferik nosiseptif reflekslerin omurilik düzeyinde NMDA tarafından fasilitasyonunun endojen NO düzeyinde bir artışla sonuçlandığı bilinmektedir¹⁶³.

NO'in beyin ve omurilik dışında periferik sinir sisteminde de nosisepsiyonun iletilmesinde etkisi olduğu bilinmektedir. L-arjinin/NO/sGMP yolağının aktivatörleri ve/veya inhibitörleri kullanılarak, NO'in hem nosiseptif hem de antinosiseptif etkili olduğu bildirilmiştir^{165,166}.

2.6.5. Nitrik Oksit ve Nöropatik Ağrı

Nöropatik ağrının oluşum mekanizmalarına etki eden ve mekanizmaları karmaşıklaştıran bir diğer unsur inflamasyonun serbest radikallerinden Nitrik Oksit (NO). Periferik sinir hasarlığı lokal inflamasyonun hiperemi, kan basıncı artışı ve plazma sızıntısı gibi özellikleri ile ilişkilidir. Sinir hasarını takiben hasarlı aksonlar Wallerian Dejenerasyon (WD) sürecine girer, bir dizi yapısal ve moleküler değişim sonucunda aksonal devamlılık kesintiye uğrar. WD hiç kuşkusuz rejenerasyonun devamı ve sağlam sinir trasesine ulaşabilmek için gereklidir. Özellikle Schwann hücreleri olmak üzere yerleşik ve dolaşımdan yeni gelen makrofajlar gibi WD sürecine katılan hücreler hem aksonal dejenerasyonu hem de inflamasyonu regüle eden bir moleküler kaskadı teşkil ederler. Bu moleküller TNF- α , IL-1, IL-6, gama interferon ve bazı büyüme faktörlerinden oluşur. Öte yandan bradikinin, serotonin, prostaglandin gibi inflamatuvar mediatörler salgılanır ve bunlar da nosiseptif primer afferent lifleri etkileyerek ağrı hipersensitivitesi oluştururlar¹⁶⁷.

NO de pek çok hücre tarafından oluşturulan ve yüksek membran penetrasyon kabiliyeti olan radikal biyolojik ajandır. Sinir hasarı sonrasında NO hem pro-inflamatuvar hem de antiinflamatuvar faaliyetlere katılır. Nosisepsiyonda NO sadece ağrı hipersensitivitesi değil aynı zamanda analjezi gelişimine de katkıda bulunmaktadır. İnsanda intrakütanöz veya paravasküler NO enjeksiyonları ağrıyı hızla arttırmakta, kemirgenlerde ise inflamatuvar ağrıyı bazen arttırmakta bazen azaltmaktadır. Bu paradoksal durum ya lokal NO üretimindeki konsantrasyon farkından veya primer afferent nöronların farklı davranışlarından kaynaklanmaktadır¹⁶⁷.

Yukarda anlatılan genel bilgilerin ışığında bu tez çalışmasında, günümüzde klasik analjezik ilaçlara cevap vermeyen ve tedavisi oldukça güç olan nöropatik ağrının tedavisinde umut olabileceği çeşitli deneysel çalışmalarla bildirilmiş olan;

- ❖ tramadol ve agmatin'in etkilerini laboratuvar ortamında oluşturduğumuz siyatik sinirin tek taraflı sıkı ligasyonu modelinde incelemek,
- ❖ etkilerinde nitrik oksid sisteminin katkısı olup olmadığını araştırmak,
- ❖ iki ilacın kombine kullanımının sonuçlarını değerlendirmek,
- ❖ literatürdeki diğer bulgularla karşılaştırmak ve böylece önceden yapılan çalışmalara katkıda bulunmak amacıyla,

aşağıda anlatılan araştırmalar gerçekleştirilmiş, bulgular tartışılmıştır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

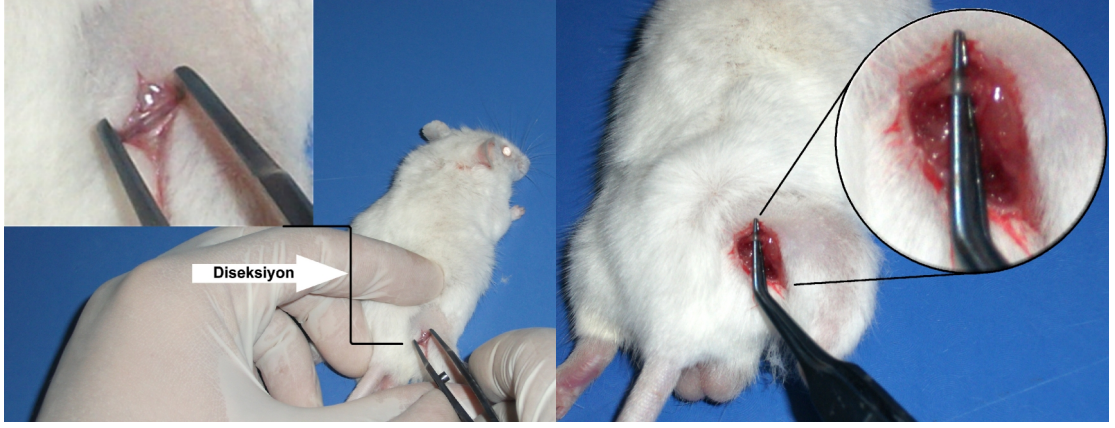
3.1. Deney Hayvanı ve Barındırma Koşulları

Çalışmalarda deney hayvanı olarak, Çukurova Üniversitesi Tıbbi Bilimler Deneysel Araştırma Merkezinden (TIBDAM) temin edilen, 8 haftalıktan büyük, 25-30 gram ağırlıklarında Balb/C türü erkek fareler kullanıldı. Deneylerde kullanılan fareler her kafeste 10 tane olacak şekilde yerleştirilerek, standart laboratuvar koşullarına ve TIBDAM yönergesinde belirlenen etik kurallara uygun olarak barındırılmıştır. Deneylere başlanmadan önce Ç.Ü. Deney havanları etik kurulundan onay alınmıştır.

Ç.Ü. Tıp Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı Davranış Farmakolojisi Laboratuvar'ında, farelere uygulanan cerrahi girişimler aseptik koşullarda gerçekleştirilmiştir. Bu fareler girişim sonrasında 12 saat aydınlık/12 saat karanlık döngüsünde, ses yalıtımlı, sıcaklık ve nemi sabit tutulan laboratuvarında, istedikleri kadar yiyebilip içecekleri yem ve su sağlanarak barındırılmıştır.

3.2. Cerrahi Operasyon

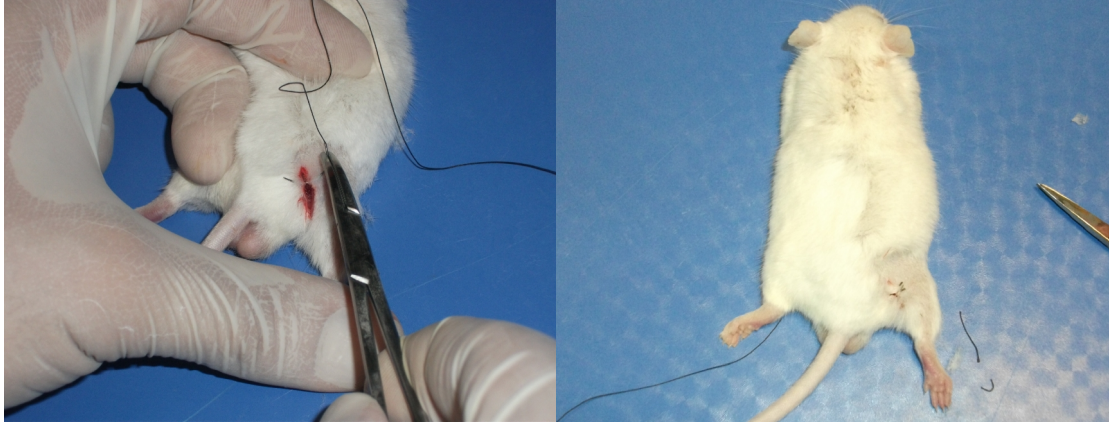
Farelerde nöropatik ağrı oluşturmak için siyatik sinir parsiyel sıkı ligasyonu (PSL) modeli kullanılmıştır. Siyatik sinir bağlama işlemi öncesinde anestezi için, enjeksiyon yapıldı. Anestezi altına alınan deney hayvanları aseptik şartlar altında fare sağ bacak siyatik sinirine ulaşabilmek için biceps femorise yaklaşık 1cm'lik (siyatik sinirin arka kısmının 1/2 ila 1/3 kısmı) bir kesi uygulanıp kas diseksiyonu yapıldıktan sonra siyatik sinir uyluk düzeyinde ortaya çıkarılmıştır (Şekil 7). Bu işlemden sonra siyatik sinir altındaki dokulardan temizlenip eğimli pens ile vücut dışına esnetilerek 8.0 emilmeyen iplik ile modele uygun düğüm atıldıktan sonra açılan kesi 4.0 ipek iplik ile kapatılmıştır⁶.



Şekil 7. Kas diseksiyonu ve siyatik sinirin ortaya çıkarılması.

3.3. Sham Operasyonu

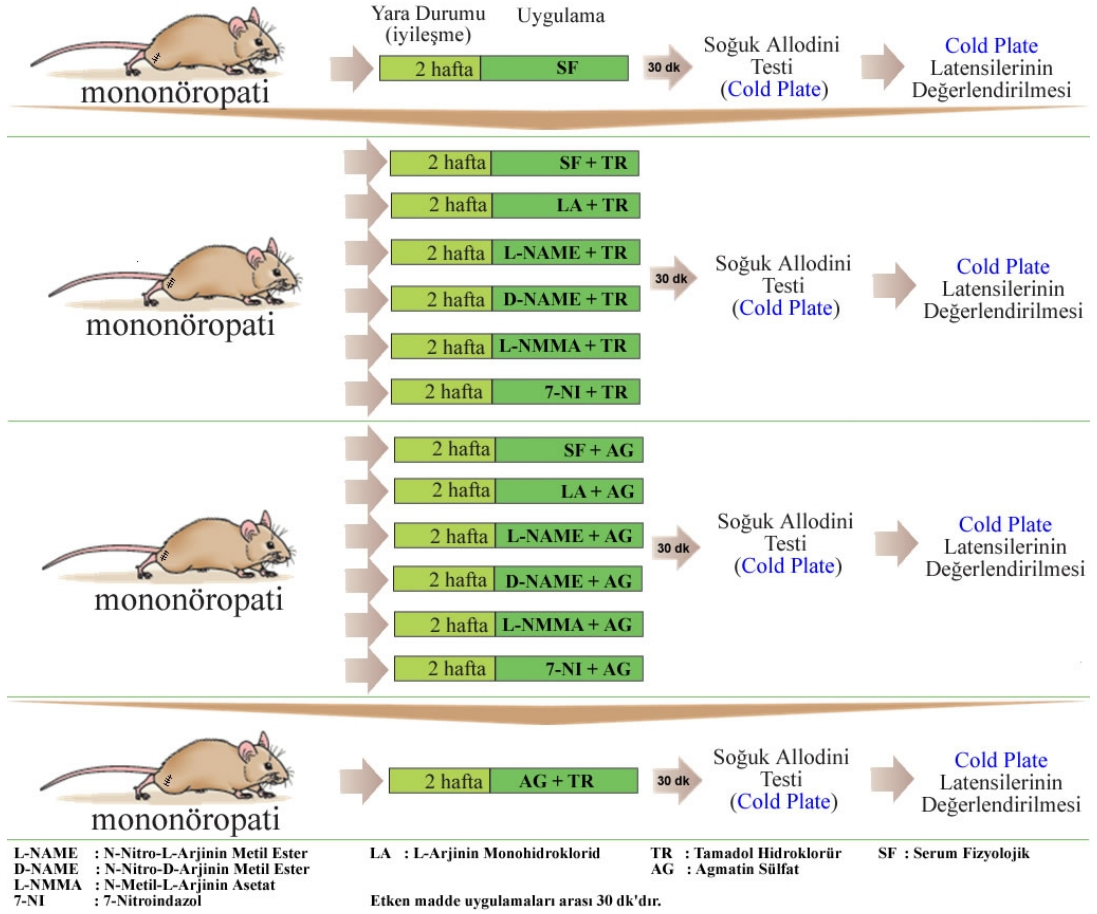
Aseptik şartlar altında biceps femorise yaklaşık 1 cm'lik kesi uygulanıp kas seperasyonu yapıldıktan sonra siyatik sinir görülüp bağlanmaksızın kesi yeri 4.0 ipek ile kapatılmıştır (Şekil 8). Bu grubun çalışmadaki önemi, deney hayvanında oluşturulması planlanan kronik ağrının, kas diseksiyonundan oluşacak ağrıdan ayırt edilmesi ve modelin etkinliğinin ölçülmesidir.



Şekil 8. Kas diseksiyonu yapıp siyatik sinire dokunulmaksızın kapatılması.

3.4. Deney Grupları ve Uygulama Sıraları

Fareler deney protokolüne göre üç (3) gruba ayrılmıştır. Bu gruplardan birincisi sağlam farelerden oluşan, grafiklerde kontrol grup olarak kullanılan, hiçbir işlem yapılmamış gruptur. İkinci grup ise sham olarak adlandırılan, cilt ve kas dokusuna kesi uygulayarak siyatik sinire ulaşılmış fakat ipek iplikle bağlamadan kapatılmış gruptur. Üçüncü grup nöropati grubudur. Bu grup farelerde yukarıda ayrıntılı olarak belirtildiği şekilde siyatik sinir bağlanarak mononöropati (NP) oluşturulmuştur. Bu gruplara aşağıda belirtilen uygulamalar yapılmıştır.

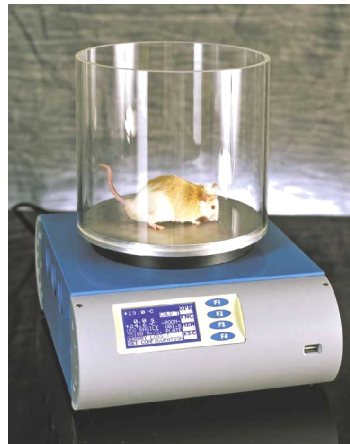


Şekil 9. Deney grupları ve uygulamalar.

3.5. Cold Plate Testi

Allodini nöropatik ağrının en önemli bulgularındandır. Normalde ağrılı olmayan bir stimulusa karşı verilen ağrı yanıtı olarak tanımlayabileceğimiz allodiniyi değerlendirmek için termal veya mekanik uyaranlar kullanılabilir. Bunlardan en fazla kullanılanı hayvana soğuk uyaran uygulanması sonucu hayvanın reaksiyonunu ölçmektir¹⁶⁸. Çalışmamızda farelerde oluşan mononöropatiye bağlı olarak oluşan kronik ağrıyı değerlendirmek için soğuk allodini testi, bunun için de cold-plate cihazı kullanılmıştır.

Cold Plate cihazı, etrafı şeffaf silindir plastik camla deney hayvanının ortamdaki uzaklaşmasına izin vermeyecek şekilde düzenlenmiş ve +5 °C sıcaklıkta sabitlenebilen dairesel metal plakadan oluşmaktadır (Şekil 10). Cihaza bağlı pedal ile kontrol edilen otomatik zaman sayacı, plaka üzerine bırakılan deney hayvanının belirli davranışlarından birini sergileyene kadar geçen süreyi belirlemektedir. Gözlemsel olarak bu süreyi belirlemede kullanılan davranışlarından birisi mononöropati oluşturulmuş pençenin sallanması veya arka pençeleri üzerinde ayağa kalkmasıdır. Diğer bir hareket ise yine arka pençeleri üzerinde kalkıp silindir cama ön pençelerini dayayarak durmasıdır^{168,169}. Çalışmamızda, bahsedilen bu davranışlardan herhangi birini sergileyene kadar geçen süre saniye (sn) cinsinden belirtilmiş ve cold plate latensi olarak (CPL) tanımlanmıştır. Her fare bir uygulamada kullanılmıştır.



Şekil 10. Cold plate cihazı.

3.6. Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Uygulama Şekilleri

Deneylerde Agmatin Sülfat (Sigma), Tramadol Hidroklorür (Abdi İbrahim İlaç San.), L-Arjinin Monohidroklorid (Sigma), N-Nitro-L-Arjinin Metil Ester (Sigma), N-Nitro-D-Arjinin Metil Ester (Sigma), N-Metil-L-Arjinin Asetat (Sigma) ve 7-Nitroindazol (Sigma) etkin konsantrasyonlarında kullanıldı (Tablo 5). Kullanılan bütün kimyasal maddeler %0,9'luk sodyum klorür içerisindeki çözeltileri her bir fareye 0,1 ml/10g olarak intraperitoneal (i.p.) enjeksiyonla uygulanmıştır. İlaçlar nöropati oluşturulduktan iki hafta sonra uygulanmış, ilk madde uygulamasından 30 dk sonra ikinci madde uygulaması yapılmıştır.

Kullanılan etken maddelerin dozları, ön denemelerimiz ve literatür bilgilerinden yararlanılarak belirlenmiştir.

Tablo 5. Kullanılan kimyasal maddeler ve uygulama şekilleri.

Fonksiyonu	Kimyasal Madde İsmi	Kısaltma	Uygulama Dozu	Uygulama şekli
	Agmatin Sülfat	AG	40 mg/kg	İntraperitoneal (i.p.)
Analjezik	Tramadol Hidroklorür	TR	50 mg/kg	İntraperitoneal (i.p.)
Nitrik Oksit Prekürsörü	L-Arjinin Monohidroklorid	LA	40 mg/kg	İntraperitoneal (i.p.)
	N-Nitro-D-Arjinin Metil Ester	D-NAME	30 mg/kg	İntraperitoneal (i.p.)
Nitrik Oksit	N-Nitro-L-Arjinin Metil Ester	L-NAME	20 mg/kg	İntraperitoneal (i.p.)
Sentaz	N-Metil-L-Arjinin Asetat	L-NMMA	30 mg/kg	İntraperitoneal (i.p.)
İnhibitörleri	7-Nitroindazol	7-NI	20 mg/kg	İntraperitoneal (i.p.)

3.7. Sonuçların Değerlendirilmesi ve İstatistiksel Analiz

Elde edilen sonuçlar, ortalama \pm standart hata (S.E) şeklinde hesaplandı. Sonuçların istatistiksel olarak analizi için birden fazla grubun birbiriyle karşılaştırılmasında tek yönlü varyans analizi (One-Way ANOVA) kullanıldı. Gruplar arasındaki karşılaştırmalar Newman – Keuls testine göre yapıldı. 0.05' den küçük P değerleri anlamlı olarak kabul edildi (P<0.05).

4. BULGULAR

4.1. Mononöropati Yapılan Hayvanlarda Cold Plate Latensi (CPL)

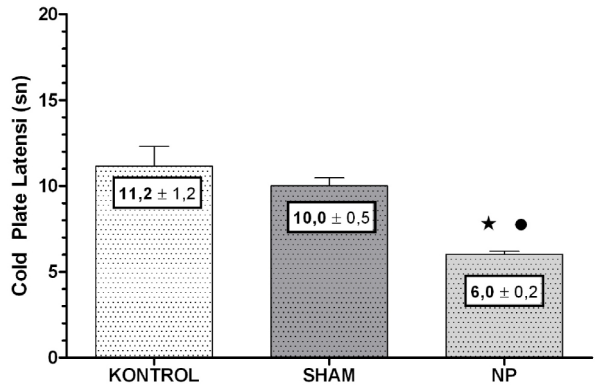
Sham ve NP operasyonu yapıldıktan sonra hayvanlar kafeslerinde gözleme alındı. Kiloları ve fiziksel görünüşleri izlendi. Nöropatik hayvanların kiloları kontrol ve SHAM grubuna göre belirgin değişiklik göstermedi. Fiziksel görünüşlerinde de kayda değer bir değişiklik yoktu, ancak siyatik sinir ligasyonu yapılan taraftaki pençede dokuda değişiklikler gözlemlendi (Şekil 11).

Grupların CPL, nöropati ve sham operasyonu yapıldıktan 2 hafta sonra ölçüldü. SHAM grubuna ait CPL kontrolden farklı değilken, NP grubunda CPL'nin anlamlı bir düşüş gösterdiği gözlemlendi (Şekil 12).

SHAM operasyonunun farelerde allodini oluşturmadığı gözlemlendiği için bundan sonraki gruplarda karşılaştırma grubu olarak sadece kontrol grubu kullanılmıştır. NP oluşturulan farelerde CPL'nin anlamlı düşüşü, uygulanan operasyonun farelerde allodiniye neden olduğunu göstermektedir. Bu da nöropatik ağrı oluşturmak için kullanılan modelin uygun olduğunu göstermektedir.



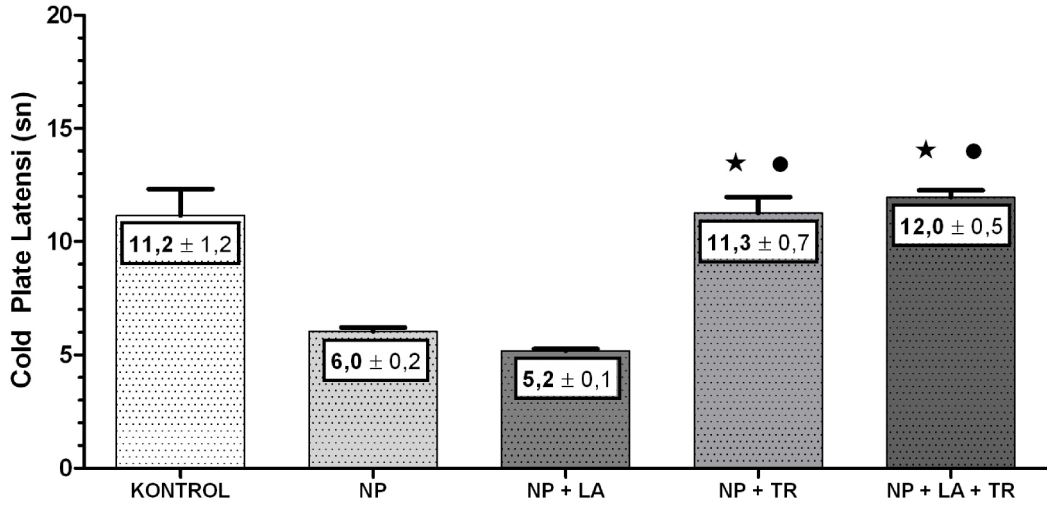
Şekil 11. Siyatik sinir ligasyonu yapılan ve yapılmayan pençelerdeki fiziksel görünüm.



Şekil 12. Kontrol, sham ve NP gruplarında CPL latensileri. One-way anova, newman-keuls multiple comparison testine göre; *: Kontrol grubundan anlamlı olarak farklı. (P<0.05). • : SHAM grubundan anlamlı olarak farklı. (P<0.05).

4.2. Cold Plate Testinde Tramadol ve L-Arjinin Etkileşimi

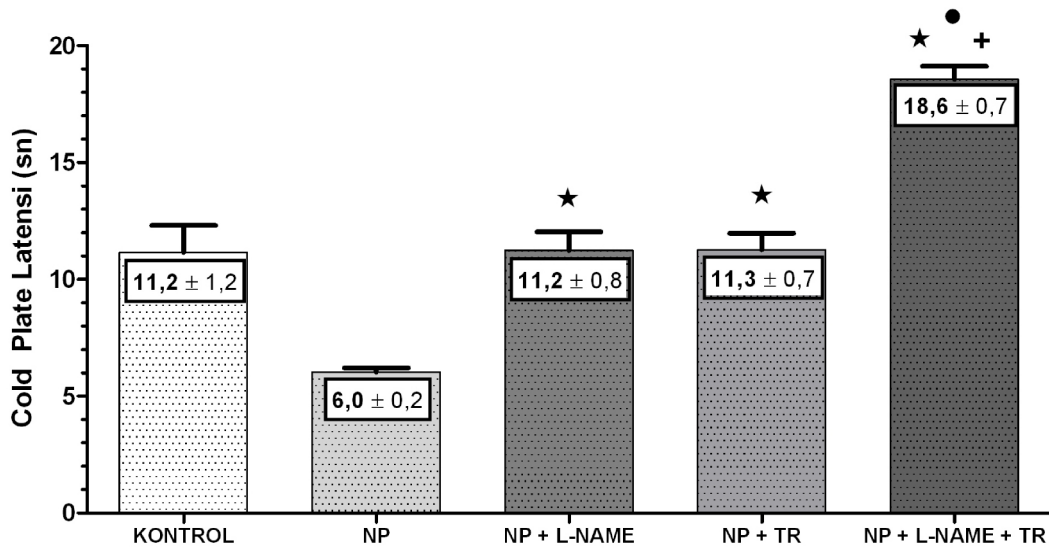
Nöropatili (NP) deney hayvanlarına uygulanan Tramadol (TR, 50 mg/kg i.p.) ile L-Arjinin'in (LA, 40 mg/kg i.p.) cold plate latensi ölçümleri Şekil 13'te gösterilmektedir. Elde edilen sonuçlara göre; TR tek başına uygulandığında CPL 'yi yükseltmiştir (Bu antiallodinik etki olarak değerlendirilmiştir). LA ise tek başına herhangi bir etki göstermemiş, TR'nın antiallodinik etkisini de değiştirmemiştir.



Şekil 13. Cold plate testinde tramadol ve l-arjinin etkileşimi. One-way anova, newman-keuls multiple comparison testine göre; *: NP grubundan anlamlı olarak farklıdır. (P<0.0001), •: NP + LA grubundan anlamlı olarak farklıdır. (P<0.0001)

4.3. Cold Plate Testinde Tramadol ve N-Nitro-L-arjinin Metil Ester Etkileşimi

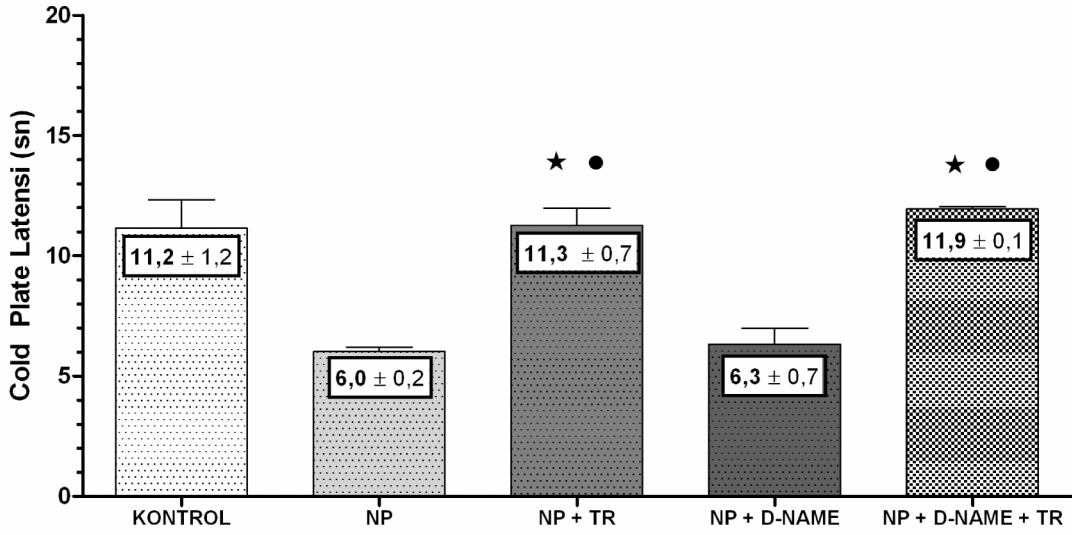
Nöropatili (NP) deney hayvanlarına uygulanan Tramadol (TR, 50 mg/kg i.p.) ve nitrik oksit sentaz (NOS) inhibitörü olan N-Nitro-L-arjinin metil ester (L-NAME, 20 mg/kg i.p.)'in cold plate latensi ölçümleri Şekil 14'te gösterilmektedir. L-NAME'nin tek başına uygulanması CPL'nin yükselmesine neden olmuştur (antiallodinik etki). Kombine kullanımında ise TR'nin antiallodinik etkisini arttırmıştır.



Şekil 14. Cold plate testinde tramadol ve agmatin etkileşimi. One-way anova, newman-keuls multiple comparison testine göre; *: NP grubundan anlamlı olarak farklıdır. ($P < 0.0001$), • : NP + L-NAME grubundan anlamlı olarak farklıdır. ($P < 0.0001$), + : NP + TR grubundan anlamlı olarak farklıdır. ($P < 0.0001$)

4.4. Cold Plate Testinde Tramadol ve N-Nitro-D-arjinin Metil Ester Etkileşimi

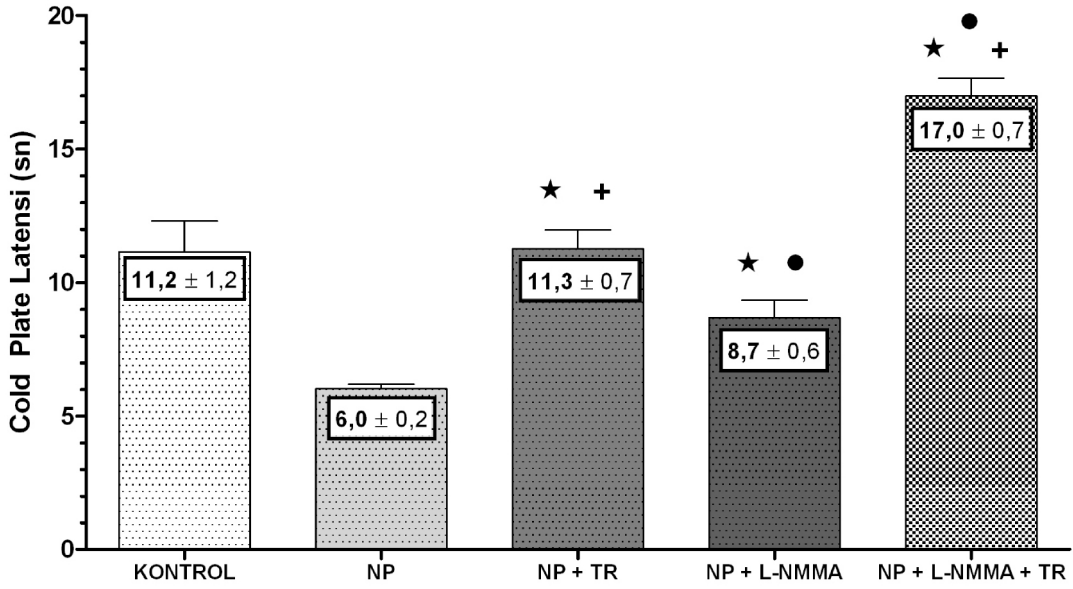
Nöropatili (NP) deney hayvanlarına uygulanan nitrik oksit sentaz (NOS) inhibitörü L-NAME ile elde edilen etkinin NOS inhibisyonuna bağlı olup olmadığını anlamak için L-NAME'nin dekstro formu olan N-Nitro-D-arjinin metil esterini (D-NAME, 30 mg/kg i.p.) ile deneyler tekrarlanmıştır. Elde edilen cold plate latensi ölçümleri Şekil 15'de gösterilmektedir. D-NAME, tek başına bir etki oluşturmamış ve TR'nin antiallodinik etkisini de değiştirmemiştir.



Şekil 15. Cold plate testinde tramadol ve n-nitro-d-arjinin metil ester etkileşimi. One-way anova, newman-keuls multiple comparison testine göre; *: NP grubundan anlamlı olarak farklıdır. (P<0.0006). •: NP + D-NAME grubundan anlamlı olarak farklıdır. (P<0.0006)

4.5. Cold Plate Testinde Tramadol ve N-metil-L-arjinin Asetat Etkileşimi

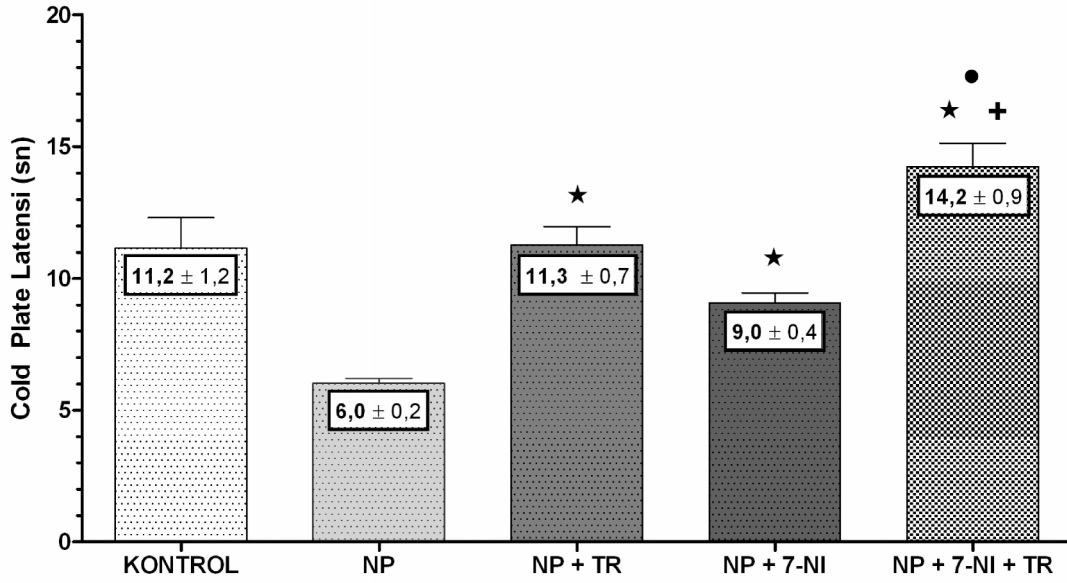
Nöropatili (NP) deney hayvanlarına uygulanan Tramadol (TR, 50 mg/kg i.p.) ve nitrik oksit sentaz (NOS) inhibitörü olan N-metil-L-arjinin asetat (L-NMMA, 30 mg/kg i.p.)'in cold plate latensi ölçümleri Şekil 16'de gösterilmektedir. Elde edilen sonuçlara göre; L-NMMA, tek başına antiallodinik etki göstermiştir. TR'nın antiallodinik etkisinin de artmasına neden olmuştur.



Şekil 16. Cold plate testinde tramadol ve n-metil-l-arjinin asetat etkileşimi. One-way anova, newman-keuls multiple comparison testine göre; ★: NP grubundan anlamlı olarak farklıdır. (P<0.0001), • : NP + TR grubundan anlamlı olarak farklıdır. (P<0.0001), +: NP + L-NMMA grubundan anlamlı olarak farklıdır. (P<0.0001)

4.6. Cold Plate Testinde Tramadol ve 7-Nitroindazol Etkileşimi

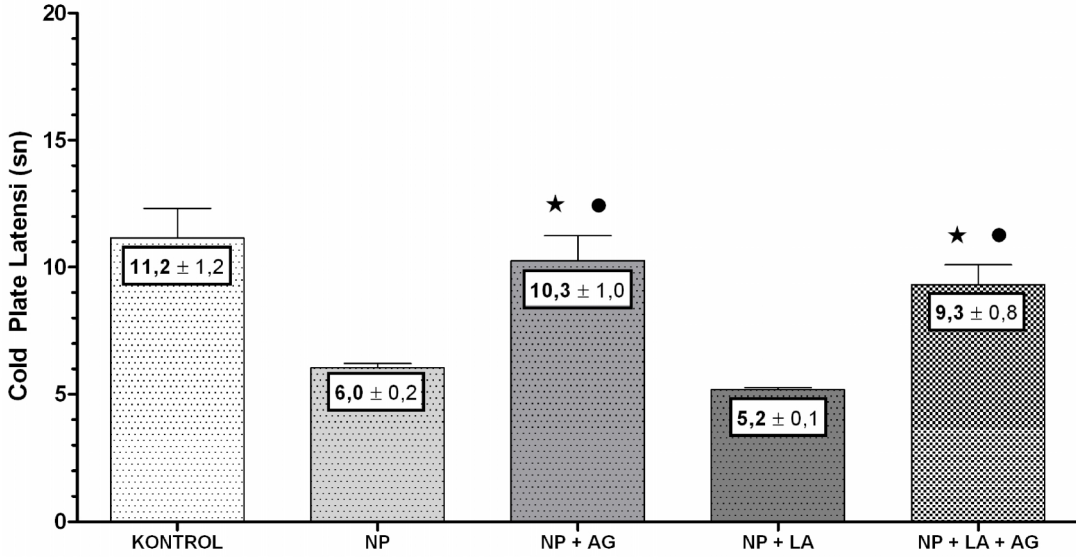
Nöropatili (NP) deney hayvanlarına uygulanan Tramadol (TR, 50 mg/kg i.p.) ve nitrik oksit sentaz (NOS) inhibitörü olan 7-Nitroindazol (7-NI, 20 mg/kg i.p.)'in cold plate latensi ölçümleri Şekil 17'de gösterilmektedir. Sonuçlara göre, 7-NI tek başına uygulandığında anlamlı bir antiallodinik etki oluşturmuş ve TR'nın antiallodinik etkisini arttırmıştır.



Şekil 17. Cold plate testinde tramadol ve 7-nitroindazol etkileşimi. One-way anova, newman-keuls multiple comparison testine göre; *: NP grubundan anlamlı olarak farklıdır. (P<0.0001), • : NP + TR grubundan anlamlı olarak farklıdır.(P<0.0001), + : NP + 7-NI grubundan anlamlı olarak farklıdır. (P<0.0001)

4.7. Cold Plate Testinde Agmatin ve L-Arjinin Etkileşimi

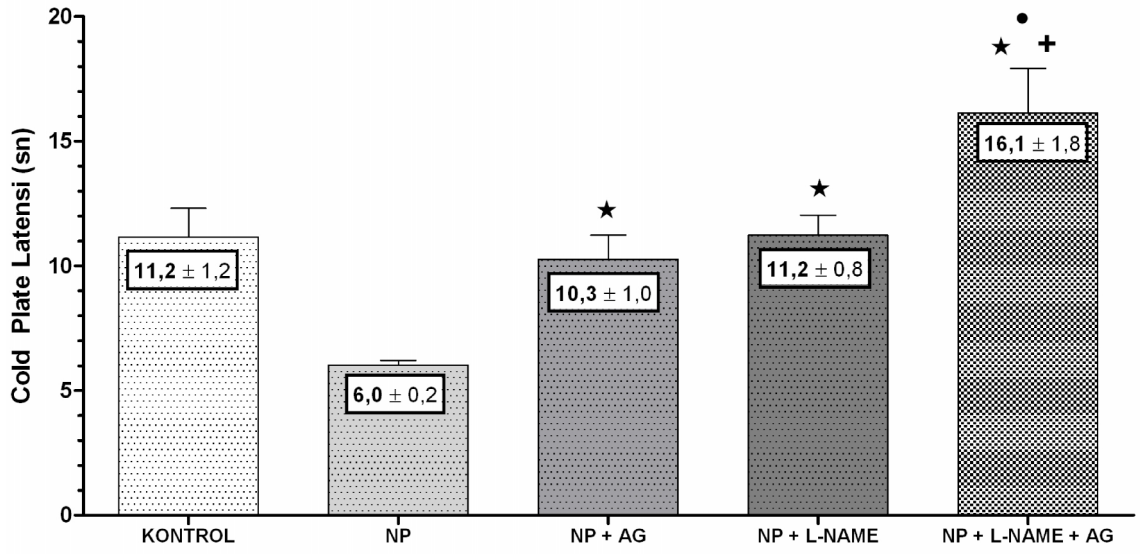
Nöropatili (NP) deney hayvanlarına uygulanan Agmatin (AG, 40 mg/kg i.p.) ile L-Arjinin'in (LA, 40 mg/kg i.p.) cold plate latensi ölçümleri Şekil 18'de gösterilmektedir. Elde edilen sonuçlara göre; LA ne tek başına etki göstermiş ne de AG'nin antiallodinik etkisini değiştirmiştir.



Şekil 18. Cold plate testinde agmatin ve l-arjinin etkileşimi. One-way anova, newman-keuls multiple comparison testine göre; *: NP grubundan anlamlı olarak farklıdır. (P<0,0002) .•:NP + LA grubundan anlamlı olarak farklıdır. (P<0,0002)

4.8. Cold Plate Testinde Agmatin ve N-Nitro-L-arjinin Metil Ester Etkileşimi

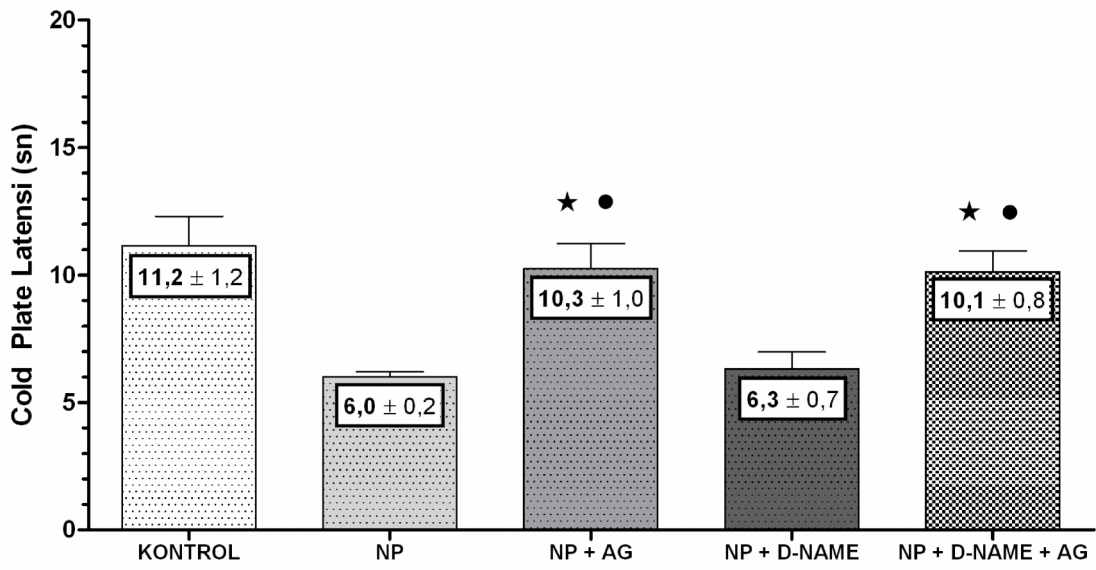
Nöropatili (NP) deney hayvanlarına uygulanan Agmatin (AG, 40 mg/kg i.p.) ve nitrik oksit sentaz (NOS) inhibitörü olan N-Nitro-L-arjinin metil ester (L-NAME, 20 mg/kg i.p.)'in cold plate latensi ölçümleri Şekil 19'de gösterilmektedir. L-NAME uygulaması, AG'nin antiallodinik etkisinde artışa neden olmuştur.



Şekil 19. Cold plate testinde agmatin ve n-nitro-l-arjinin metil ester etkileşimi. One-way anova, newman-keuls multiple comparison testine göre; *: NP grubundan anlamlı olarak farklıdır. (P<0.0003), • :NP + AG grubundan anlamlı olarak farklıdır. (P<0.0003), +:NP + L-NAME grubundan anlamlı olarak farklıdır. (P<0.0003)

4.9. Cold Plate Testinde Agmatin ve N-Nitro-D-arjinin Metil Ester Etkileşimi

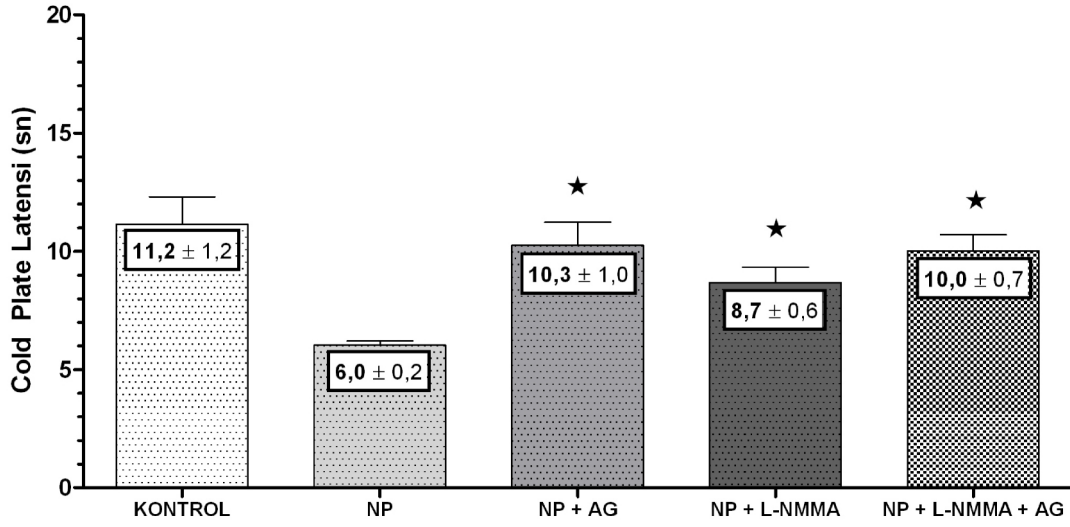
Nöropatili (NP) deney hayvanlarına uygulanan Agmatin (AG, 40 mg/kg i.p.) ve nitrik oksit sentaz (NOS) inhibitörü L-NAME'nin dekstro formu olan N-Nitro-D-arjinin metil ester (D-NAME, 30 mg/kg i.p.)'in cold plate latensi ölçümleri Şekil 20'de gösterilmektedir. D-NAME uygulaması, AG'nin antiallodinik etkisinde herhangi bir değişikliğe neden olmamıştır.



Şekil 20. Cold plate testinde agmatin ve n-nitro-d-arjinin metil ester etkileşimi. One-way anova, newman-keuls multiple comparison testine göre; *: NP grubundan anlamlı olarak farklıdır. (P<0.0006), •:NP + D-NAME grubundan anlamlı olarak farklıdır. (P<0.0006)

4.10. Cold Plate Testinde Agmatin ve N-metil-L-arjinin Asetat Etkileşimi

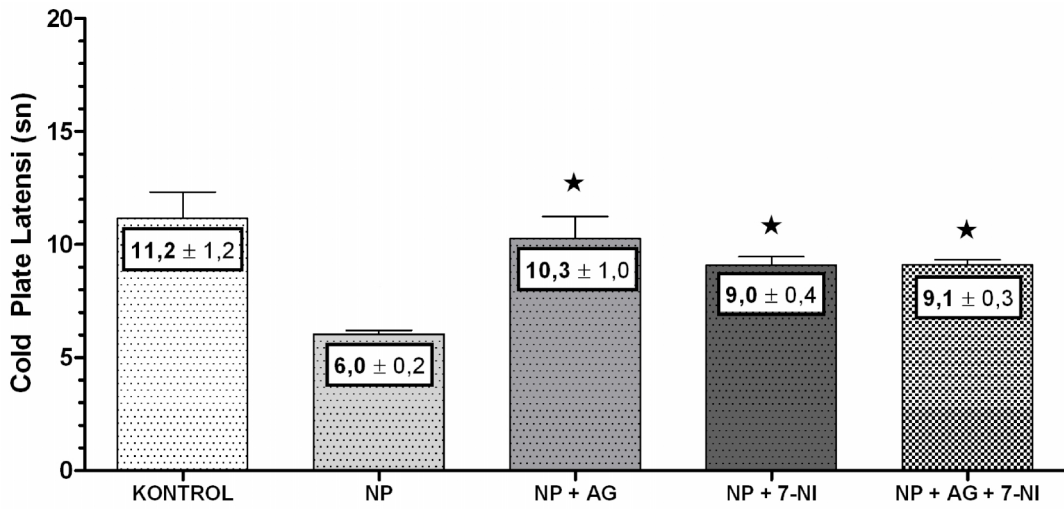
Nöropatili (NP) deney hayvanlarına uygulanan Agmatin (AG, 40 mg/kg i.p.) ve nitrik oksit sentaz (NOS) inhibitörü olan N-metil-L-arjinin asetat (L-NMMA, 30 mg/kg i.p.)'in cold plate latensi ölçümleri Şekil 21'de gösterilmektedir. Elde edilen sonuçlara göre; L-NMMA tek başına uygulandığında anlamlı bir antiallodinik oluşturmuş fakat kombine uygulamada AG'nin antiallodinik etkisini değiştirmemiştir.



Şekil 21. Cold plate testinde agmatin ve n-metil-l-arjinin asetat etkileşimi. One-way anova, newman-keuls multiple comparison testine göre; *: NP grubundan anlamlı olarak farklıdır (P<0.0035).

4.11. Cold Plate Testinde Agmatin ve 7-Nitroindazol Etkileşimi

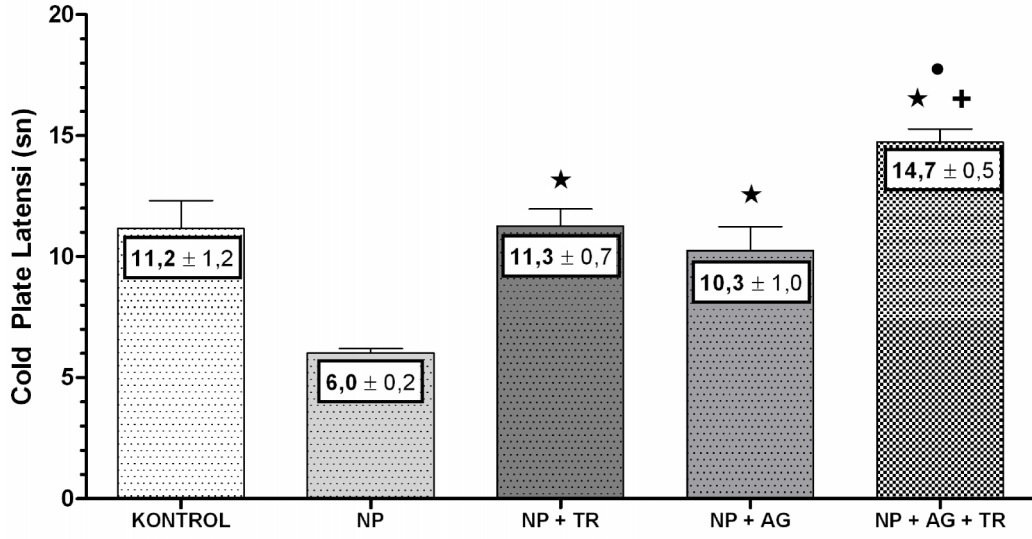
Nöropatili (NP) deney hayvanlarına uygulanan Agmatin (AG, 40 mg/kg i.p.) ve nitrik oksit sentaz (NOS) inhibitörü olan 7-Nitroindazol (7-NI, 20 mg/kg i.p.)'in cold plate latensi ölçümleri Şekil 22'de gösterilmektedir. Elde edilen veriler ışığında; 7-NI tek başına uygulandığında anlamlı bir antiallodinik etki oluşturmuştur. Fakat kombine uygulamada AG'nin antiallodinik etkisinde değişikliğe neden olmamıştır.



Şekil 22. Cold plate testinde agmatin ve 7-nitroindazol etkileşimi. One-way anova, newman-keuls multiple comparison testine göre; *: NP grubundan anlamlı olarak farklıdır. (P<0.0001)

4.12. Cold Plate Testinde Tramadol ve Agmatin Etkileşimi

Bu grupta nöropatili (NP) deney hayvanlarına tek başlarına uygulandıklarında antiallodinik etki gösteren TR ve AG'nin, kombine uygulaması daha güçlü bir antiallodinik etki göstermiştir. Uygulamalara ait cold plate latensi ölçümleri Şekil 23'de gösterilmektedir.



Şekil 23. Cold plate testinde tramadol ve agmatin etkileşimi. One-way anova, newman-keuls multiple comparison testine göre; *: NP grubundan anlamlı olarak farklıdır. ($P < 0.0001$), •: NP + TR grubundan anlamlı olarak farklıdır. ($P < 0.0001$), + :NP + AG grubundan anlamlı olarak farklıdır. ($P < 0.0001$)

5. TARTIŞMA

Nöropatik ağrı sinir sisteminin bir bölümünün hasarı ve/veya disfonksiyonu sonucu oluşmaktadır. Patofizyolojisinin daha iyi anlaşılması ve tedavi yöntemlerinin araştırılması için günümüzde çeşitli hayvan modelleri geliştirilmiştir^{25,26}. Çalışmamızda deneysel nöropatik ağrı oluşturmak için Seltzer ve Shir tarafından tanımlanan parsiyel sıkı ligasyonu (PSL) modeli kullanılmıştır. Bu modelde hasardan sonraki ilk haftalar içerisinde gelişen belirgin ve sürekli mekanik ve soğuk allodini ile mekanik hiperaljezi altı ay boyunca devam eder. PSL modelinde hayvanlarda gözlenen ağrı davranışları nöropatik ağrı sendromlu insanlardaki pek çok semptomla benzerlik gösterir⁶. Deneysel nöropatik ağrı modellerinde, allodini ve hiperaljezi gibi davranışsal belirtilerinin ortaya kolaylıkla çıktığı defalarca gösterilmiştir⁵. Çalışmamızda kullandığımız cold plate testi ise, farklı deneysel nöropatik ağrı modellerinde ortaya çıkan soğuk allodinin belirlenmesinde etkili bir testtir¹⁶⁸⁻¹⁷⁰. Soğuk allodini, normalde ağrılı olmayan soğuk uyarana karşı artmış hassasiyet olarak tanımlanır ve klinik nöropatik ağrı durumlarının karakteristik bir özelliğidir¹⁷¹. Bu çalışmada nöropatik ağrıyı değerlendirmek için cold plate testi ile soğuk allodiniyi ölçmeyi seçmemizin nedeni, sabit soğuk uyarın kullanılabilmesi (5°C), hayvanın soğuk uyarın karşısındaki reaksiyonlarının rahatça gözlenebilmesi ve reaksiyon süresinin otomatik olarak kaydedilebilmesi gibi uygulama kolaylıkları olmasıdır.

Nöropatik ağrının tedavisinde öncelikli amaç tek ilaçla ağrının hafifletilmesidir, ancak pratikte kronik nöropatik ağrıda yeterli rahatlama tek ilaç tedavisi ile çok seyrek sağlanabilmektedir. Bilinen analjeziklerin nöropatik ağrıda etkisi yoktur veya kısıtlıdır^{85,172}. Bu kompleks ve dirençli durumda, iki yada daha fazla sinerjistik etkili ilacın kombine kullanımına sıklıkla ihtiyaç duyulur.

Tez çalışmamızda etkisini araştırdığımız ilaçlardan birisi olan tramadol, hem opioid hem de nonopioid etki mekanizmaları aracılığıyla kuvvetli analjezik etki göstermektedir. Ayrıca opioidlere göre daha az konstipasyon, sedasyon ve immün supresyon yapması, solunum depresyonu ve bağımlılık riskinin çok düşük olması, kronik ağrının tedavisinde tramadol'un önemini artırmıştır^{144,157}.

Adjuvan ilaçların terapötik açıdan faydaları, güçlü bir analjezi oluşumuna katkıda bulunmalarının yanı sıra majör ilaçların dozlarının düşürülmesine imkan tanımaları ve özellikle de opioidlere bağlı ciddi yan tesirlerin (bulantı-kusma, konstipasyon, kaşıntı, sedasyon ve solunum depresyonu gibi) sıklığını azaltmaları şeklinde özetlenebilir¹⁷³. Buna göre mono terapi dışında ağırlı süreçlerde kullanışlı olabilecek bir diğer yaklaşım, opioidlerin yardımcı (adjuvan) analjeziklerle veya analjezik etkinliği bulunmayan diğer ilaçlarla kombine edilmesi yöntemidir. Biz de çalışmamızda nöropatik ağrıdaki etkinliklerini ayrı ayrı değerlendirdiğimiz tramadol ve agmatin'i birlikte kullanarak kısmen opiaterejik etki gösteren tramadol'un dozunu daha fazla yükseltmeden etkinliğini agmatin'le (adjuvan) artırmanın mümkün olup olmayacağını araştırdık.

Son yıllarda birçok çalışmaya konu olan agmatin'in, akut ağrı modellerinde analjezik etki gösterdiği, nöropatik ağrı modellerinde ise termal ve mekanik hiperaljeziyi azalttığı gösterilmiştir^{124,126-128}. Bu sonuçlardan yola çıkarak çalışmamızda, agmatin'in nöropatik ağrı üzerindeki etkilerini ve nitreerjik sistem ile olan ilişkisini anlamaya yönelik deneyler gerçekleştirdik.

Nöropatik ağrının oluşum mekanizmalarına etki eden ve mekanizmaları karmaşıklaştıran bir diğer unsur, inflamasyonun serbest radikallerinden nitrik oksittir (NO). Son yıllarda yapılan pek çok çalışmada ağrı ve analjezinin modülasyonunda nitrik oksidin önemli rolünün olduğu gösterilmiştir. Omurilik düzeyinde nosisepsiyonun transmisyonunda NO'nun etkili olduğu kabul edilmektedir. NO, omurilik arka boynuzunda nosiseptif bilginin serebral düzeye taşınmasını sağlar¹⁶⁵. NO'nun ağrı mekanizmalarında önemli rol oynadığının kabul edilmesine karşın, aynı zamanda çift yönlü etkileri olduğu da belirlenmiştir. Nosisepsiyonda temel nöromedyatörlerden biridir, ancak spinal mekanik nosiseptif transmisyonu inhibe ettiğine dair bulgular da vardır¹⁷⁴. Nöropatik ağrı üzerine de NO'nun zıt yöndeki etkinliğine ilişkin çalışmalar vardır²¹.

Çalışmamızda farelerde oluşturulan nöropatik ağrı modelinde tramadol ve agmatin'in etkilerini ve nitreerjik sistem ile olan etkileşiminin araştırılması amacıyla NO prekürsörü olan L-Arjinin (LA), seçici olmayan NOS inhibitörü L-NMMA, nöronal NOS inhibitörü 7-NI, seçici olmayan yarışmalı NOS inhibitörü L-NAME ve stereo izomeri D-NAME kullanılmıştır.

Araştırmamızın ilk kısmında, nöropatik ağrıda tramadol'un antiallodinik etkisi ve bu etkide nitretrjik sistemin rolü incelenmiştir. Çalışmamızda nöropati oluşturulmuş farelere uygulanan 50 mg/kg ip tramadol (TR), cold plate latensini (CPL) kontrol grubuna göre anlamlı olarak artırmıştır (antiallodinik etki). Bu çalışmada kullandığımız tramadol dozunu ön denemelere, bu laboratuarda başka bir çalışmada yapılan doz-cevap eğrisi sonuçlarına²¹ ve literatürdeki dozlara göre seçtik. Hayvanlara ağrı oluşturacak bir cerrahi girişim yapılması nedeniyle etik kaygılarla en az sayıda hayvan kullanmaya çalıştığımız için ayrıntılı bir doz-cevap eğrisi oluşturulmamıştır. Ancak alınan sonuç literatürdeki sonuçlarla uyumlu çıkmıştır^{15,16,21}. Aynı nedenle çalışma boyunca kullanılan diğer maddelerin dozu da benzer şekilde belirlenerek tek doz uygulaması yapılmıştır. NP'li gruba uygulanan NO prekürsörü LA, tek başına antiallodinik etki oluşturmamıştır. Ayrıca TR'nin antiallodinik etkisini de değiştirmemiştir. Bu bulgu bazı çalışmalarla uyumlu olmasına rağmen²¹, literatürdeki bazı çalışmalarla uyumsuzdur^{175,184}. Aynı yöntemle nöropatik ağrı oluşturulan farelerde LA, hot-plate latensini uzatmış, başka bir deyişle termal aljeziyi önlemiştir²¹. Ayrıca sözü edilen çalışmada LA, tramadol'un etkisini de artırmıştır²¹. Sonuçların farklı olmasının nedeni bu tez çalışmamızda nöropatik ağrıyı değerlendirmede soğuk allodini yöntemini seçmiş olmamız olabilir. Soğuk allodini, nöropatik ağrının önemli bir belirtisi olarak literatürde tercih edilen bir yöntemdir¹⁶⁸. Öte yandan bizim bulgularımızla uyumlu olarak, LA'nın birçok ağrı testinde etkisi olmadığını bildiren çalışmalar da vardır: Örneğin, farelerde kuyruk çekme ve abdominal kıvranma testleri ile morfin- L-arjinin etkileşmesinin incelendiği bir çalışmada, LA'nın tek başına uygulanmasının abdominal kıvranma sayısında etkisinin olmadığı ve morfinin yanıtlarında değişiklik yapmadığı gösterilmiştir¹⁷⁵.

Çalışmamızda, NOS inhibitörlerinden L-NAME'in tek başına uygulanması, NP'li hayvanların CPL değerini artırarak antiallodinik etki göstermiştir. Bulgularımıza benzer bir sonuç Yoon ve ark.'nın çalışmasında alınmıştır. Araştırmacılar spinal sinir ligasyonu yöntemi ile sıçanlarda oluşturulan nöropatik ağrıda nitrik oksitin, mekanik ve soğuk allodini üzerine etkilerini incelemiş, çalışma sonucuna göre L-NAME tarafından mekanik allodininin baskılandığını, soğuk allodininin önlediği sonucuna varmışlardır¹⁷⁶. L-NAME'in nöropatik ağrının davranışsal belirtilerini ortadan kaldırdığını gösteren çalışmalar olmasına karşın^{176,177}, Lee ve ark. spinal sinir ligasyonu

yapılmış sıçanlarda gelişen mekanik allodinide NO'nun rolü olmadığını ve L-NAME'nin terapötik etkilerinin NOS inhibisyonu aracılığıyla olmadığını bildirmişlerdir¹⁷⁸.

Uygulama yerine göre farklılık gösteren bir çalışmada, Thomas ve ark. sıçanlarda oluşturulan nöropatik ağrıda sistemik uygulanan L-NAME ve D-NAME'in hiperaljeziyi değiştirmediğini fakat sinir hasarı yapılmış bölgeye 2 hafta kadar ozmotik pompa ile uygulanan L-NAME'in termal hiperaljeziyi azalttığı sonucuna varmışlardır. Böylece, hasarlı bölgeye uygulanan NOS inhibitörü ile yeni bir tedavi yaklaşımı olacağını düşünmektedirler¹⁷⁹.

Çalışmamızda NP'li gruba L-NAME varlığında uygulanan TR, tek başına uygulanan TR'dan daha yüksek analjezik etki oluşturmuştur. Başka bir deyişle, L-NAME, tramadol'un antinosiseptif etkisini artırmıştır. Bu, nitrik oksidin ağrı oluşumunda rolü olduğu görüşüne uyan bir sonuçtur ve birçok deneysel çalışmayla uyumludur. Sıçanlarda deneysel olarak oluşturulan nöropatik ağrıdaki tramadol'un antinosiseptif etkisinde NO'nun rolünün araştırıldığı çalışmada, intratekal veya intraperitoneal uygulanan NOS inhibitörü N(omega)-nitro-L-arjinin (L-NA), tramadol'un ortalama mekanik antinosiseptif eşik değerlerini anlamlı derecede düşürdüğünü göstermişlerdir¹⁸⁰. Öte yandan, tramadol'un sıçanlarda akut ağrıdaki analjezik etkisinde nitrik oksitin rolünün araştırıldığı bir çalışmada, tramadol 10 mg/kg dozunda tek başına tail immersiyon latensi süresini artırdığı, L-NAME ve 7-NI'nin tramadol ile kombine kullanıldığı grupta sırasıyla tramadol'un analjezik etkisini düşürdüğü ve artırdığı gösterilmiştir¹⁸¹. Alınan bu farklı sonuçların akut ve kronik ağrı mekanizmaların işleyişinde nitrejik sistemin farklılık gösterdiği fikrini öne çıkarmaktadır.

L-NAME etkisinin NOS inhibisyonuna bağlı olup olmadığını anlamak için L-NAME'in inaktif izomeri D-NAME'in etkisini incelediğimizde nöropatik ağrıda ne tek başına, ne de tramadol'un antiallodinik etkisi üzerine bir etkisini gözlemedik. Aldığımız bu sonucu destekler nitelikte, Yoon ve ark. nöropatik ağrıda inaktif izomer D-NAME'in, mekanik ve soğuk allodini üzerinde herhangi bir değişiklik yapmadığı sonucuna varmışlardır¹⁷⁶. Bu sonuçlar da L-NAME etkisinin NOS inhibisyonu ile ilgili olduğunu düşündürmektedir.

Deneylerimizde kullandığımız bir diğer NOS inhibitörü L-NMMA, hem NP'li farelere tek başına uygulandığında anlamlı antiallodinik etki oluşturmuş hem de TR ile birlikte uygulandığında etkiyi artırmıştır. Bu sonuç, NOS inhibisyonunun ağrıyı azalttığı görüşüyle uyumludur ve L-NAME ile aldığımız sonucu desteklemektedir. Benzer sonuçlar, farelerde kuyruk çekme ve abdominal kıvranma testleri ile morfinin antinosiseptif etkilerinde L-NAME, D-NAME ve L-NMMA ve L-Arjinin etkisinin incelendiği bir çalışmada alınmış, L-arjinin ve D-NAME'in tek başına uygulanmasının abdominal kıvranma sayısında etkisinin olmadığı ve morfinin yanıtlarında değişiklik yapmadığı gösterilmiştir. Fakat L-NAME ve L-NMMA tek başlarına uygulandıklarında hem kayda değer bir antinosisepsiyona hem de morfinin analjezik etkisinde artışa neden olmuştur. Kuyruk çekme testinde ise tek başına hiçbir madde etki göstermezken L-NAME ve L-NMMA morfinin antinosiseptif etkisini artırmış, L-arjinin azaltmış, D-NAME ise etki göstermemiştir¹⁷⁵.

Bir başka çalışmada spinal nitrik oksidin, nöropatik ağrıda allodini oluşumunda rolünün olmadığını, ancak klonidinin antiallodinik etkisine aracılık ettiği bildirilmiştir¹⁸². Tüm bu çalışmalar gerek akut ağrıda gerekse nöropatik ağrıda nitrik oksidin rolünün karmaşık ve çeşitli koşullara bağlı olduğunu göstermektedir.

Duarte ve Ferreira, asetik asit ile kıvranma ve karagenin enjeksiyonuna bağlı ağrıda, L-NAME'in doza bağımlı antinosiseptif bir etki gösterdiğini, yine bir NOS inhibitörü olan L-NMMA'nın ise anlamlı bir antinosisepsiyona sahip olmadığını göstermişlerdir. Ayrıca L-NAME'in antinosiseptif etkisinin L-NMMA tarafından antagonize edildiği, guanilat siklaz inhibitörleri ile ortadan kaldırıldığı ileri sürülmüştür. Ek olarak L-Arjinin ve cGMP fosfodiesteraz inhibitörünün kullanılmasının, L-NAME'in etkisini potansiyelize ettiği görülmüştür¹⁸³.

Deneylerimizin sonuçlarımıza göre L-NAME'in antiallodinik etkisi, L-NMMA'nın antiallodinik etkisinden daha güçlüydü. Benzer bir bulguya ulaşan Babbedge ve ark. bunun sebebinin L-NAME'nin L-NMMA'dan daha güçlü bir beyin NOS inhibitörü olmasına bağlamışlardır¹⁸⁸.

Çalışmamızda, kronik ağrı modellerinde nosisepsiyonun spinal transmisyonunda rolü olduğu gösterilen nöronal NOS'un inhibisyonu da incelenmiştir. Nöronal NOS inhibitörü olan 7-NI, tek başına uygulandığında nöropatili gruba göre anlamlı bir antiallodinik etki gösterdi ve TR'nın etkisini de artırdı. Bu bulgumuzu destekleyen bir

çalışmada deneysel nöropatik ağrı modelinde mekanik, termal ve soğuk allodini değerlendirilmiş, NO prekürsörü LA ve NO donorü sodyum nitroprusiyatın hiperaljezi ve allodiniyi artırdığı, intraperitoneal olarak uygulanan L-NAME ve 7-NI'nın ağrıyı hafiflettiği sonucuna varılmıştır¹⁸⁴. Bir başka çalışmada periferik nöropati oluşturulan sıçanlarda von Frey filamantleriyle uygulanan mekanik allodini üzerine seçici NOS inhibitörü 7-NI'nın etkileri incelenmiş, maddenin akut analjezik etkisi olduğu, ancak kümülatif etkisinin olmadığı bildirilmiştir¹⁸⁵.

NO modülatörleri ile yaptığımız çalışmalar genel olarak NO sentez inhibisyonunun nöropatik ağrıyı azalttığı/önlediği görüşüne uygun düşmektedir. Ayrıca NOS inhibisyonunun tramadol'un nöropatik ağrıdaki etkisine aracılık ettiği de söylenebilir. Bu sonuçlar yukarıda verilen örneklerde olduğu gibi birçok literatür bulgusuyla uyumaktadır^{21,176,177,179,181,184,185}.

Araştırmamızın ikinci kısmında, periferik nöropatiye bağlı gelişen kronik ağrıda agmatin'in etkileri ve bu etkide NO modülatörlerinin rolü incelenmiştir. NOS inhibitörü olarak da etki gösteren agmatin (AG), NOS'un bütün izoformlarını inhibe etmektedir. Aynı zamanda hem imidazolin (I₂) reseptörlerine hem de α_2 -adrenerjik reseptörlerine bağlanarak bu reseptörlerin aracılık ettiği etkilerde rol oynamaktadır. Deneysel akut ve kronik ağrı çalışmalarında agmatin'in antinosiseptif, antiallodinik ve antihiperalezik etki gösterdiğini bildiren sonuçlar ağrı yolağının inhibisyonunda önemli bir ajan olabileceğini düşündürmektedir¹²⁷. Önal ve Ark., siyatik sinir ligasyonu ile nöropati oluşturulan sıçanların beyin sapı ve serebellumundaki noradrenerjik ve nitrik oksit aktivitesinin agmatin ile olası etkilerine baktıkları çalışmada, yüksek doz agmatin uygulanan deneklerde, hem beyin sapı hem de serebellumda nitrit-nitrat seviyesini ve adrenerjik aktiviteyi düşürdüğünü göstermişlerdir. Nöropatik ağrının giderilmesinde agmatin'in etkisinin, bu düşüşleri sağlayarak olabileceği düşünülmektedir¹⁹⁰. Çalışmamızda NP'li farelere tek başına uygulanan agmatin, CPL latensini uzatarak antiallodinik bir etki göstermiştir. Benzer bir şekilde Arıcıoğlu ve ark. tarafından yapılan deneysel nöropati çalışmasında, agmatin, Balb/c farelerde tail immersiyon testinde i.p uygulandığında 40, 80 ve 100 mg/kg dozlarında anlamlı bir antinosiseptif etki göstermiş, ancak aynı testte i.c.v. uygulandığında herhangi bir etki görülmemiştir. Hot-plate testinde ise i.c.v. uygulanan agmatin doza bağlı bir antinosiseptif etki gösterirken i.p uygulandığında etkisiz bulunmuştur¹²⁵. Sampson ve ark.'nın sıçan

kullanarak yaptıkları akut ağrı çalışmasında, I₂ reseptör ligandlarının antinosiseptif etkilerini ılık su (46 °C ve 50 °C) kuyruk çekme testi ile değerlendirmişlerdir. Çalışmada kullanılan agmatin 46 °C antinosiseptif etki gösterirken 50 °C göstermemiştir. Çalışma sonucunda akut fazda etki gösteren I₂ reseptör ligandlarının geliştirilerek daha etkili hale getirilmesi ve opioid tedavilerinin etkisinin artırılmasında kullanılabileceği sonucuna ulaşmışlardır¹⁸⁶.

Deneylerimizde L-NAME varlığında uygulanan AG, tek başına uygulanan AG'den daha yüksek bir antiallodinik etkiye neden olmuştur. Güçlü NOS inhibisyonu ile ağrı iletiminde görev alan NO'nun üretiminin azaltılması sayesinde kombinasyonun yüksek antiallodinik etki gösterdiği düşünülmektedir. Diğer bir taraftan, Karadağ ve ark. iki farklı nöropati modeli üzerinde, yüksek dozlarda agmatin'in taktil allodiniyi düşürdüğünü ve bu antiallodinik etkinin dizosilpin maleat (MK-801), N-nitro-L-arjinin metil ester (L-NAME) ve 7-nitroindazol (7-NI) tarafından değişmediğini göstermişlerdir¹²⁷. Morfine bağlı analjezide agmatin ve L-NAME'in tail flick ve hot plate testlerinde incelendiği bir çalışmada, Agmatin ve L-NAME tail flick testinde morfine bağlı analjeziyi artırırken (spinal analjezi) hot plate testinde (supraspinal analjezi) değiştirmemiştir. Ayrıca agmatin'e bağlı potansiyalizasyonu L-NAME engellememiştir¹⁸⁷.

D-NAME uygulaması AG'nin antiallodinik etkisi üzerinde bir etkisi olmamıştır. Çalışmamızda tek başına kullanıldığında NP'li farelerde antiallodinik etki gösteren L-NMMA ve 7-NI, Agmatin'in antiallodinik etkisinde herhangi bir değişikliğe neden olmamıştır. Bu sonuçlar literatürdeki bazı sonuçlarla benzerlik göstermektedir. Karadağ ve ark.'nın çalışmasında 7-NI, agmatin'nin antiallodinik etkisini değiştirmedeğini göstermişlerdir¹²⁷. Formalin ile oluşturulan deneysel akut ağrı çalışmasında, i.p. uygulanan L-NAME'in hem erken hem de geç fazda antinosiseptif etki gösterdiği, L-NMMA ve D-NAME'in herhangi bir değişiklik yapmadığını gözlemlemişlerdir. İ.c.v. uygulamada L-NAME ve L-NNA antinosiseptif etki gösterirken L-NMMA ve D-NAME etki göstermedi. Bu alınan sonuçlara göre L-NAME beyindeki NOS enzimlerini inhibe etme gücünün L-NMMA'dan daha güçlü olduğunu, son zamanlarda yayımlanan biyokimyasal verilerin desteğiyle desteklemişlerdir¹⁸⁸.

Çalışmamızın üçüncü kısmında tek başlarına kullanıldığında antiallodinik etki gösteren TR ve AG'nin kombine kullanımının sonuçları incelenmiştir. Sonuç olarak,

kombine uygulama hem TR'nın hem de AG'nin tek başlarına yaptıklarından daha yüksek bir antiallodinik etki oluşmasına neden olmuştur. İki ajanın hem farklı mekanizmalar üzerinden etki göstermesi hem de ikisinin de etkilerinde NOS inhibisyonunun rolü olabileceği bu etkinin oluşmasına zemin hazırladığı düşünülmektedir. Thorn ve Ark.'nın morfin ve tramadol'un antinosisepsiyonunda, I₂ reseptör ligandı olan agmatin'in etkilerine baktıkları ender bir çalışmada, tramadol ve morfinin ılık su kuyruk daldırma akut ağrı testinde AG'nin, tramadol ve morfinin antinosiseptif etkilerini doza bağımlı olarak artırdığını göstermişlerdir¹⁸⁹.

Sonuç olarak, bu çalışmada etkisini incelediğimiz tramadol ve agmatin nöropatik ağrıda ümit verici bileşikler olarak düşünülebilir. Her iki maddenin antiallodinik etkisinde NOS inhibisyonunun rolü farklı derecelerde olabilir. Bu maddelerin antiallodinik etkilerinde sadece NOS inhibisyonu değil, farklı mekanizmalar da rol oynayabilir. Agmatin'in etkilerinde imidazolin ve α_2 reseptörlerinin, tramadol'un etkilerinde ise noradrenerjik ve serotonerjik sistemlerin katkısının olduğu bildirilmektedir.

6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlar ve önerilerimiz aşağıdaki şekilde özetlenebilir:

1. Siyatik sinirin parsiyel sıkı ligasyonu yöntemi nöropatik ağrının değerlendirilmesi ve yeni tedavi seçeneklerinin araştırılması için kullanılabilir uygun bir yöntemdir. Biz çalışmamızda nöropatik ağrıyı sadece soğuk allodini yönünden değerlendirdik ve incelediğimiz maddelerin soğuk allodini üzerine etkilerini değerlendirdik. Sonraki çalışmalarda nöropatinin taktıl allodini, mekanik hiperaljezi gibi belirtileri de incelenerek alınan sonuçlar karşılaştırılarak daha etraflı bulgulara ulaşılabilir.
2. Bu yöntemle etkilerini incelediğimiz tramadol ve agmatin nöropatik ağrıda kullanılma potansiyeli olan bileşikler olarak önerilebilir. Bu amaçla daha ileri çalışmalarla maddelerin olası farklı farmakolojik etkileri ve yan tesirleri de değerlendirilmelidir.
3. Her iki madde tek başlarına kullanılabilirdiği gibi kombine olarak da kullanılabilir. Ancak kombinasyonun antiallodinik etkisinin her iki bileşiğin tek başına kullanılmasından daha fazla olduğu gösterilmiş olsa da etkileşimler ve yan tesirler açısından kombinasyonun etkilerinin incelenmesine gereksinim vardır.
4. Çalışmamızın sonuçlarına göre her iki maddenin antiallodinik etkisinde nitrik oksit inhibisyonunun rolü vardır. Bu sonuçlar farklı deneysel modellerle ve ileri çalışmalarla kontrol edilerek, nöropatik ağrının tedavisinde yeni yaklaşımlar için veriler elde edilebilir.
5. Tramadol ve agmatin'in nöropatik ağrıdaki etkileri sadece nitretrjik sistemin inhibe edilmesine bağlı olmayabilir, ileri düzeyde araştırmalarla olası diğer mekanizmaların katkıları da incelenmelidir.

7. KAYNAKLAR

1. Woolf C. J., Salter M. V. Neuronal plasticity. Increasing the gain in pain. *Science* 2000; 288: 1765-1768.
2. Jensen T. S.. Mechanisms of neuropathic pain. In: Campbell J. N., editor. *Pain 1996: an updated review*. Seattle, WA: IASP Press 1996; pp. 77-86.
3. Jensen T. S., Gottrup H.. Assesment of neuropathic pain. In: Jensen T. S., Wilson P. R., Rice A. S., editors. *Clinical Pain Management; Chronic Pain*. London: Arnold, 2003: pp. 113-124.
4. Yücel A, Çimen Y. Nöropatik ağrı. Mekanizmalar, tanı ve tedavi. *Ağrı* 2005; 17:1.
5. Bennet G.J., Xie Y.K. A peripheral mononeuropathy in rat that produces disorders of pain sensation like those seen in man. *Pain* 1988; 33:87-107.
6. Seltzer Z., Dubner R., Shir Y. A novel behavioral model of neuropathic pain disorders produced in rats by partial sciatic nerve injury. *Pain* 1990; 43:205-18.
7. Kim S.H., Chung J.M. An experimental model for peripheral neuropathy produced by segmental spinal nerve ligation in the rat. *Pain* 1992; 50:355-63.
8. Decosterd I., Woolf C.J., Spared nevre injury: an animal model of persistent peripheral neuropathic pain. *Pain* 2000;87:149-58.
9. Malmberg AB, Basbaum AI. Partial sciatic nevre injury in the mouse as a model of neuropathic pain: behavioral and neuroanatomical correlates. *Pain* 1998;76:215-22.
10. Shields SD, Eckert WA 3rd, Basbaum AI. Spared nerve injury model of neuropathic pain in the mouse: a behavioral and anatomic analysis. *J Pain* 2003;4:465-70.
11. MacFarlane BV, Wright A, O'Callaghan J, Benson HA. Chronic neuropathic pain and its control by drugs. *Pharmacol Ther* 1997;75:1-19.
12. Watson CP. The treatment of neuropathic pain: antidepressants and opioids. *Clin J Pain* 2000;16(2 Suppl):S49-55.
13. Woolf CJ, Mannion RJ. Neuropathic pain: aetiology, symptoms, mechanisms, and management. *Lancet* 1999;353:1959-64.
14. Benedetti F, Vighetti S, Amanzio M, Casadio C, Oliaro A, Bergamasco B, et al. Dose-response relationship of opioids in nociceptive and neuropathic postoperative pain. *Pain* 1998;74:205-11.
15. Apaydin S, Uyar M, Karabay NU, Erhan E, et al. The antinociceptive effect of tramadol on a model of neuropathic pain in rats. *Life Sci* 2000; 66(17): 1627-37.
16. Onal A, Parlar A, Ulker S. Milnacipran attenuates hyperalgesia and potentiates antihyperalgesic effect of tramadol in rats with mononeuropathic pain. *Pharmacol Biochem Behav* 2007; 88(2): 171-8.
17. Dayer P, Collard L, Desmeules J. The Pharmacology of Tramadol. *Drugs*, 1994; 47(1):3-7.
18. Reis D, Regunathan S. Is agmatine a novel neurotransmitter in brain? *TIPS*, 2000; 21:187-193.

19. Fairbanks CA, Schreiber KL, Brewer KL, Yu CG, Stone L. Agmatine reverses pain induced by inflammation, neuropathy, and spinal cord injury. PNAS, 2000; 97(19):10584-10585.
20. Mete S. Deneysel akut ağrı modelinde tramadol-agmatin etkileşmesi ve olası mekanizmaların araştırılması. Yüksek lisans tezi, Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Adana, 2008.
21. Kahriman C. Tramadol'un nöropatik ağrı üzerindeki antinosiseptif etkisinde nitrejik sistemin rolü. Uzmanlık tezi, Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi, Adana, 2006.
22. Önal SA: Ağrı. Önal SA. (editör). Algoloji. 1. Baskı. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 2004:1-20.
23. Raj PP: Ağrı Taksonomisi. Erdine S. (editör). Ağrı. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 2002:12-19.
24. Erdine S: Ağrı Mekanizmaları. Erdine S. (editör). Ağrı. 2. Baskı. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 2002:20-29.
25. Dworkin RH. An overview of neuropathic pain: Syndromes, symptoms, signs and several mechanisms. Pain 2002;18:343-349.
26. Talu GK. Nöropatik Ağrı: Erdine S (editör). Ağrı. 2. Baskı, İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri. 2002:368-374.
27. Mao J, Price DD, Zhu J, Mayer DJ. The inhibition of nitric oxide-activated poly (ADP-ribose) synthase attenuates transsynaptic alteration of spinal cord dorsal horn neurons and neuropathic pain in the rat. Pain 1997;72:355-366.
28. Costigan M, Woolf CJ. Pain: Molecular mechanisms. Pain 2000;1:35-44.
29. Yaksh TL. Pharmacology of the pain- processing system. Waldman SD (editör). Interventional Pain Management. Second Edition, St. Louis: W. B. Saunders Company 2001:32-34.
30. Mayer DJ, Mao J, Holt J, Price DD. Cellular mechanisms of neuropathic pain, morphine tolerance and their interactions. Proc Natl Acad Sci 1999;96:7731-7736.
31. Smith HS, Sang CN. The evolving nature of neuropathic pain: individualizing treatment. Euro Pain 2002;6:37-44.
32. Hansson P. Neuropathic pain: clinical characteristics and diagnostic workup. Euro Pain 2002;6:47-50.
33. Vega JA, Garcia-Suarez O, Hannestad J, Perez-Perez M, Germana A. Neurotrophins and the immune system. J Anat 2003;203:1-19.
34. Scholl of Crystallography: Birbeck, University of London. <http://people.cryst.bbk.ac.uk/ubcg09j/neurotrophins/esn11/esn11.html>, 1996. Erişim tarihi:Ağustos 2009.
35. Shoster EM. Early days of the nerve growth factor proteins. Annu Rev Neurosci 2001;24:601-629.
36. Frossard N, Freund V, Advenier C. Nerve growth factor and its receptors in asthma and inflammation. Eur J Pharmacol 2004;500:453-465.
37. Rankin SL, Guy CS, Mearow KM. TrkA NGF receptor plays a role in the modulation of p75 NTR expression. Neurosci Lett 2005; 283:305-310.

38. Gilbert SF, Developmental Biology, Seventh Edition. <http://7e.devbio.com/article.php?id=143.html>. 2003.
39. Sofroniev MV, Howe CL, Mobley WC. Nerve growth factor signalling, neuroprotection and neural repair. *Annu Rev Neurosci* 2001;24:1217-1281.
40. Castellanos MR, Aguiar J, Fernandez CI, Almaguer W, Mejias C, Varela A. Evaluation of the neurorestorative effects of the murine beta-nerve growth factor infusions in old rat with cognitive deficit. *Biochem Biophys Res Commun* 2003;312:867-872.
41. Baron R. Peripheral neuropathic pain: from mechanisms to symptoms. *Clin J Pain* 2000; 16 (Suppl. 2):12-20.
42. Serra J. Overview of neuropathic pain syndromes. *Acta Neurol Scand* 1999; Suppl 173:7 -11.
43. Attal N, Bouhassira D. Mechanisms of pain in peripheral neuropathy. *Acta Neurol Scand*. 1999; Suppl 173:12-24.
44. Woolf CJ, Doubell TP. The pathophysiology of chronic pain-increased sensitivity to low threshold A beta-fibre inputs. *Curr Opin Neurobiol* 1994; 4:525-534.
45. Apfel SC. Neurotrophic factors and pain. *Clin J Pain* 2000; 16 (Suppl. 2):7-11.
46. Kovelowski CJ, Ossipov MH, Sun H, Lai J, Malan TP, Porreca F. Supraspinal cholecystokinin may drive tonic descending facilitation mechanisms to maintain neuropathic pain in the rat. *Pain* 2000; 87:265-273.
47. Janig W, McLachlan E. On the fate of sympathetic and sensory neurons projecting into a neuroma of the superficial peroneal nerve in the cat. *J Comp Neurol* 1984; 225:302-311.
48. Woolf CJ, Shortland P, Coggeshall RE. Peripheral nerve injury triggers central sprouting of myelinated afferents. *Nature* 1992; 355:75-78.
49. Baron R. Mechanisms of disease: neuropathic pain-a clinical perspective. *Nat Clin Pract Neurol* 2005; 2:95-106.
50. Sivilotti LG, Thompson SW, Woolf CJ. Rate of rise of the cumulative depolarization evoked by repetitive stimulation of small- calibre afferents is a predictor of action potential windup in rat spinal cord in vitro. *J Neurophysiol* 1993; 69:1621-1631.
51. Hains BC, Saab CY, Klein JP, Craner MJ, Waxman SG. Altered sodium channel expression in second-order spinal sensory neurons contributes to pain after peripheral nerve injury. *J Neurosci* 2004; 24: 4832-4839.
52. Ji RR, Woolf CJ. Neuronal plasticity and signal transduction in nociceptive neurons: implications for the initiation and maintenance of pathological pain. *Neurobiol Dis* 2001;8:1-10.
53. Thompson SW, King AE, Woolf CJ. Activity-dependent changes in rat ventral horn neurons in vitro; summation of prolonged afferent evoked postsynaptic depolarizations produce a d-2-amino-5-phosphonovaleric acid sensitive windup. *Eur J Neurosci* 1990; 2:638-649.
54. Baranauskas G, Nistri A. Sensitization of pain pathways in the spinal cord: Cellular mechanisms. *Prog Neurobiol* 1998; 54:349-365.
55. Woolf CJ, King AE. Dynamic alterations in the cutaneous mechanoreceptive fields of dorsal horn neurons in the rat spinal cord. *J Neurosci* 1990; 10:2717-2726.

56. Guilbaud G, Benoist JM, Levante A, Gautron M, Willer JC. Primary somatosensory cortex in rats with pain-related behaviours due to a peripheral mononeuropathy after moderate ligation of one sciatic nerve: neuronal responsivity to somatic stimulation. *Exp Brain Res* 1992; 92: 227-245.
57. Baba H, Ji RR, Kohno T, Moore KA, Ataka T, Wakai A, et al. Removal of GABAergic inhibition facilitates polysynaptic A fiber-mediated excitatory transmission to the superficial dorsal horn. *Mol Cell Neurosci* 2003; 24:818-830.
58. Moore KA, Kohno T, Karchewski LA, Scholz J, Baba H, Woolf CJ. Partial peripheral nerve injury promotes a selective loss of GABAergic inhibition in the superficial dorsal horn of the spinal cord. *J Neurosci* 2002; 22:6724-6731.
59. De Andres J, Garcia-Ribas G. Neuropathic pain treatment: The challenge. *Pain Practice*. 2003; 3: 1-7.
60. Lineberry CG, Vierck CJ. Attenuation of pain reactivity by caudate nucleus stimulation in monkeys. *Brain Res*. 1975; 98: 119-34.
61. Vadalouca A, Siafaka I, Argyra E, Vrachnou E, Moka E. Therapeutic management of chronic neuropathic pain. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 2006; 1088: 164-86.
62. Chong MS, ZH Bajwai. Diagnosis and treatment of neuropathic pain. *J. Pain Symptom Manage.* 2003; 25: S4-S11.
63. Ozra, F. Neuropathic pain. review of mechanisms and pharmacologic management. *Neurorehabilitation* 2000; 14: 15-23.
64. Solak Ö, Kavuncu V. Kronik Nöropatik Ağrı Tedavisinde Güncel Yaklaşımlar. *Romatizma* 2008; 23: 135-42
65. Namaka M, Gramlich CR, Ruhlen D, Melanson M, Sutton I, Major J. A treatment algorithm for neuropathic pain. *Clin Ther* 2004; 26: 951-79.
66. Ramsay RE. Clinical efficacy and safety of gabapentin. *Neurol* 1994. 1994; 44: S23-S30.
67. Rowbotham MC, Davies PS, Verkempinck C, Galer BS. Lidocaine patch: double-blind, controlled study of a new treatment for post-herpetic neuralgia. *Pain* 1996; 65: 39-44.
68. Galer BS, Rowbotham MC, Perander J, Friedman E. Topical lidocaine patch relieves postherpetic neuralgia more effectively than a vehicle topical patch: results of an enriched enrollment study. *Pain* 1999; 80: 533-8.
69. Meier T, Wasner G, Faust M, Kuntzer T, Ochsner F, Hueppe M. Efficacy of lidocaine patch 5% in the treatment of focal peripheral neuropathic pain syndromes: a randomized, double-blind, placebocontrolled study. *Pain* 2003; 106: 151-8.
70. Schofferman J, Mostoufi SA. Opioid Analgesics In. *Interventional Spine analgorithmic approach*. Slipman C, Derby R, Simeone FA, Mayer TG (Eds) 2008; 161-172.
71. Keskinbora K Opioid analjezikler In: *Ağrı Erdine Serdar (Ed) Nobel Tıp Kitapları, İstanbul, 2007; 581-604.*
72. Attal N, Cruccu G, Haanpaa M, Hansson P, Jensen TS, Nurmikko T, Sampaio C, Sindrup S, Wiffen P. EFSN guidelines on pharmacological treatment of neuropathic pain *Eur J Neurol* 2006; 13: 153-69.
73. Can C. Opioid Analjezikler Türkiye Klinikleri Dahili Tıp Bilimleri Farmakoloji 2005; 1: 15-23.

74. Portenoy R. K., Foley K. M., Inturrisi C. E.: The nature of opioid responsiveness and its implications for neuropathic pain: new hypotheses derived from studies of opioid infusions. *Pain* 1990; 43: 273-286.
75. Boureau F., Legallicier P., Kabir-Ahmadi M.: Tramadol in postherpetic neuralgia: a randomized, double-blind, placebocontrolled trial. *Pain* 2003; 104 (1-2): 323-331.
76. Harati Y., Gooch C., Swenson M., Edelman S., Greene D., Raskin P., Donofrio P., Cornblath D., Sachdeo R., Siu C. O., Kamin M.: Double-blind randomized trial of tramadol for the treatment of the pain of diabetic neuropathy. *Neurology* 1998; 50 (6): 1842-1846.
77. Harati Y., Gooch C., Swenson M., Edelman S. V., Greene D., Raskin P., Donofrio P., Cornblath D., Olson W. H., Kamin M.: Maintenance of the long-term effectiveness of tramadol in treatment of the pain of diabetic neuropathy. *J Diabetes Complications* 2000; 14 (2): 65-70.
78. Sindrup S. H., Andersen G., Madsen C., Smith T., Brosen K., Jensen T. S.: Tramadol relieves pain and allodynia in polyneuropathy: a randomised, double-blind, controlled trial. *Pain* 1999; 83 (1): 85-90.
79. Gram L. F.: Antidepressants: receptors, pharmacokinetics and clinical effects: In: Burrows G. D., Norman T., Davies B., editors. *Antidepressants*. Amsterdam: Elsevier Science, 1983: pp. 81-95.
80. Max M. B., Culnane M., Schafer S. C., Gracely R. H., Walther D. J., Smoller B., Dubner R.: Amitriptyline relieves diabetic neuropathy pain in patients with normal and depressed mood. *Neurology* 1987; 37: 589-596.
81. Beydoun A, Backonja MM. Mechanistic stratification of antineuralgic agents. *J Pain Symptom Manage*. 2003; 25: S18-S30.
82. Beniczky S, Tajti J, Timea Varga E, Vecsei L. Evidence-based pharmacological treatment of neuropathic pain syndromes. *J Neural Transm* 2005; 112: 735-49.
83. Backonja M., Beydoun A., Edwards K. R., Schwartz S. L., Fonseca V., Hes M., LaMoreaux L., Garofalo E.: Gabapentin for the symptomatic treatment of painful neuropathy in patients with diabetes mellitus. A randomized controlled trial. *JAMA* 1998; 280: 1831-1836.
84. Rowbotham M., Harden N., Stacey B., Bernstein P., Magnus-Miller L.: Gabapentin for the treatment of postherpetic neuralgia. A randomized controlled trial. *JAMA* 1998; 280: 1837-1842.
85. Dworkin RH, Backonja M, Rowbotham MC, Allen RR, Argoff CR, Bennett GJ, et al. Advances in neuropathic pain: diagnosis, mechanisms and treatment recommendations. *Arch Neurol* 2003; 60: 1524-35.
86. Irving GA. Contemporary assessment and management of neuropathic pain. *Neurology* 2005; 64: S21-S27.
87. Macpherson RD. New directions in pain management. *Drugs Today (Barc)* 2002; 38: 135-45.
88. Backonja MM, Serra J: Pharmacologic management part 1: better-studied neuropathic pain diseases. *Pain Med* 2004; 5: 28-47.
89. Gilron I, Watson CP, Cahill CM, Moulin DE. Neuropathic pain: a practical guide for the clinician *CMAJ* 2006; 175: 265-75.
90. Hans G, Masquelier E and Cock PD. The diagnosis and management of neuropathic pain in daily practice in Belgium: an observational study. *BMC Public Health* 2007; 7: 170.

91. Gore M, Dukes E, Rowbotham DJ. Clinical characteristics and pain management among patients with painful peripheral neuropathic disorders in general practice settings. *Eur J Pain* 2007; 11: 652-664.
92. Berger A, Dukes EM, Oster G: Clinical characteristics and economic costs of patients with painful neuropathic disorders. *J Pain* 2004; 5: 143-149.
93. Gilron I, Bailey J, Weaver DF, Houlden RL: Patients' attitudes and prior treatments in neuropathic pain: a pilot study. *Pain Res Manag* 2002; 7: 199-203.
94. Cruccu G, Aziz TZ, Garcia-Larrea L, Hansson P, Jensen TS, Lefaucheur JP, et al. EFNS guidelines on neurostimulation therapy for therapeutic pain. *Eur J Neurol* 2007; 14: 952-70.
95. Otake Oteka K, Ruggiero DA, Regunathan S, Wang H, Milner TA, Reis DJ. Regional localization of agmatine in the rat brain: an immunocytochemical study. *Brain Res* 1998; 787:1-14.
96. Morgan NG, Chan SL, Mourtada M, Monks LK, Ramsden CA. Imidazolines and pancreatic hormone secretion. *Ann NY Acad Sci* 1999; 881:217-228.
97. Olmos G, Degregorio-Rocasolano N, Regalado MP, Gasull T, Boronat MA, Trullas R, Villarroel A, Lerma J, Garcia JA, Wang G, Gorbatyuk O, Dayanithi G, Ouyang W, Wang J, Milner TA, Regunathan S, Reis DJ. Evidence for endogenous agmatine in hypothalamo-neurohypophysial tract and its modulation on vasopressin release and Ca²⁺ channels. *Brain Res* 2002; 932:25-36.
98. Li G, Regunathan S, Barrow CJ, Eshraghi J, Cooper R, Reis DJ. Agmatine: an endogenous clonidine-displacing substance in the brain. *Sci* 1994; 966-969.
99. Bousquet P, Feldman J, Schwartz J. Central cardiovascular effects of alpha-adrenergic drugs: differences between catecholamines and imidazolines. *J Pharmacol Exp Ther* 1984; 230: 232-236.
100. Ernsberger P, Graves ME, Graff LM. II-imidazoline receptors: Definition, characterization, distribution and transmembrane signaling. *Ann NY Acad Sci* 1995; 763: 22-42.
101. Li G, Regunathan S, Reis DJ. Agmatine is synthesized by a mitochondrial arginine decarboxylase in rat brain. *Ann.N.Y. Acad. Sci* 1995; 763:325-29.
102. Walter R, Regunathan S, Li G, Reis DJ. Agmatine is widely and unequally distributed in rat organs. *Ann NY Acad Sci* 1995; 763:330-334.
103. Molderings GJ, Heinen A, Menzel S, Lübbecke F, Homann J, Göthert M. Gastrointestinal uptake of agmatine. *Ann Ny Acad Sci* 2003; 1009: 44-51.
104. Regunathan S, Feinstein DL, Raasch W, Reis DJ. Agmatine, decarboxylated arginine is localized and synthesized in glial cells. *Neuroreport* 1995; 6:1987-1900.
105. Reis DJ, Yang XC, Milner TA. Agmatine containing axon terminals in rat hippocampus from synapses on pyramidal cells. *Neurosci Lett* 1998; 250:185-188.
106. Reis DJ, Regunathan S. Is agmatine a novel neurotransmitter in brain? *Trends Pharmacol Sci* 2000; 21:187-193.
107. Sastre M, Regunathan S, Reis DJ. Uptake of agmatine into rat brain synaptosomes: Possible role of cation channels. *J. Neurochem* 1997; 69:2421-2426.
108. Reis DJ, Regunathan S. Agmatine: An endogenous ligand at imidazoline receptors may be a novel neurotransmitter in brain. *J Auton Nerv Syst* 1998; 72:80-85.

109. Yang X, Reis DJ. Agmatine selectively blocks the NMDA subclass of glutamate receptor channels in rat hippocampal neurons. *J Pharmacol Exp Ther* 1999; 288: 544-549.
110. Lortie MJ. Agmatine, a bioactive metabolite of arginine. *J Clin Invest* 1996; 97:413-420.
111. Tayfun Uzbay. Şizofreni Tedavisinde Yeni Bir Hedef Agmatin ve Beyin Poliamin Sistemi. *Klinik Psikiyatri* 2009;12:188-196.
112. Sastre M, Regunathan S, Reis DJ. Agmatinase activity in rat brain: A metabolic pathway for the degradation of agmatine. *J Neurochem* 1996; 67:1761-1765.
113. Sastre M, Regunathan S, Reis DJ. Uptake of agmatine into rat brain synaptosomes: Possible role of cation channels. *J. Neurochem* 1997; 69:2421-2426.
114. Molderings GJ, Menzel S, Kathman M, Schlicker E, Göthert M. Dual interaction of agmatine with the rat α 2D-adrenoceptor: competitive antagonism and allosteric activation. *Br J Pharmacol* 2000; 130: 1706-1712.
115. Gonzalez C, Regunathan S, Reis DJ, Estrada C. Agmatine is an endogenous modulator of noradrenergic neurotransmission in the rat tail artery. *Br J Pharmacol* 1996; 119:677-684.
116. Quik M. Inhibition of nicotinic receptor mediated ion fluxes in rat sympathetic ganglia by a potent phospholipase. *Brain Res* 1985; 325: 79-88.
117. Raasch W, Schafer U, Chun J, Dominiak P. Biological significance of agmatine, an endogenous ligand at imidazoline binding sites. *Br J Pharmacol* 2001; 133:755- 780.
118. Galea E, Regunathan S, Eliopoulos V, Feinstein DL, Reis DJ. Inhibition of mammalian nitric oxide synthases by agmatine, an endogenous polyamine formed by decarboxylation of arginine. *Biochem J* 1996; 316:247-249.
119. Regunathan S, Piletz JE. Regulation of inducible nitric oxide synthesis in macrophages and astrocytes. *Ann NY Acad Sci* 2003; 1009:20-29.
120. Arıcıoğlu-Kartal F, Uzbay IT. Inhibitory effect of agmatine on naloxone precipitated abstinence syndrome in morphine dependent rats. *Life Sci* 1997; 61:1775-1781.
121. Arıcıoğlu-Kartal F, Regunathan S. Effect of chronic morphine treatment on the biosynthesis of agmatine in rat brain and other tissues. *Life Sci* 2002; 71:1695-1701.
122. Arıcıoğlu F, Means A, Regunathan S. Effects of agmatine on the development of morphine dependence in rats: Potential role of cAMP system. *Eur.J Pharmacol* 2004; 504:191-197.
123. Arıcıoğlu F, Paul IA, Regunathan S. Agmatine reduces only peripheral related behavioral signs, not the central signs, of morphine withdrawal in nNOS deficient transgenic mice. *Neurosci Lett* 2004; 354:153-157.
124. Fairbanks CA, Schreiber KL, Brewer KL, Yu CG, Stone LS, Kitto KF, Nguyen HO, Grocholski BM, Shoeman DW, Kehl LJ, Regunathan S, Reis DJ, Yezierski RP, Wilcox GL. Agmatine reverses pain induced by inflammation, neuropathy and spinal cord injury. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2000; 97:10584- 0589.
125. Arıcıoğlu F, Körçeğiz E, Bozkurt A, Özyalçın S. Effect of agmatine on acute and mononeuropathic pain. *Ann NY Acad Sci* 2003; 1009:106-115.
126. Arıcıoğlu F, Kan B, Yıllar O, Körçeğiz E, Berkman K. Effect of agmatine on electrically and chemically induced seizures in mice. *Ann NY Acad Sci* 2003; 1009:141-146.

127. Karadağ HC, Ulugöl A, Tamer M, İpçi Y, Dökmeci İ. Systemic agmatine attenuates tactile allodynia in two experimental neuropathic pain models in rats. *Neurosci Lett* 2003; 339:88-90.
128. Santos ARS, Gadotti VM, Oliveira GL, Tibola D, Pazcuk AF, Neto A, Spindola HM, Souza MM, Rodrigues ALS, Calixto JB. Mechanisms involved in the antinociception caused by agmatine in mice. *Neuropharmacol* 2005; 48:1021-1034.
129. Regunathan S, Feinstein DL, Reis DJ. Anti-proliferative and inflammatory actions of imidazoline agents. Are imidazoline receptors involved? *Ann NY Acad Sci* 1999; 881:410-419.
130. Kolesnikov Y, Jain S, Pasternak GW. Modulation of opioid analgesia by agmatine. *Eur J Pharmacol* 1996; 296:17-22.
131. Arıcıoğlu F. Sinir Sisteminin Fonksiyonlarını Modüle Edebilen Yeni Bir Madde: Agmatin. *RCHP* 2:3-4 2008.
132. Arıcıoğlu F, Altunbaş H. Is agmatine an endogenous anxiolytic/antidepressant agent? *Ann NY Acad Sci* 2003; 1009:136-140.
133. Demehri S, Homayoun H, Honar H, Riazi K, Vafaie K, Roushanzamir F, Dehpour AR. Agmatine exerts anticonvulsant effect in mice: Modulation by α 2-adrenoceptors and nitric oxide. *Neuropharmacol* 2003; 45:534-542.
134. Su RB, Wei XL, Zheng JQ, Liu Y, Lu XQ, Li J. Anticonvulsive effect of agmatine in mice. *Pharmacol Biochem Behav* 2004; 77:345-349.
135. Feng Y, Leblanc MH, Regunathan S. Agmatine reduces extracellular glutamate during pentylenetetrazole-induced seizures in rat brain: A potential mechanism for the anticonvulsive effects. *Neurosci Lett* 2005; 390:129-133.
136. Luszczyk JJ, Czernecki R, Wojtal K, Borowicz KK, Czuczwar SJ. Agmatine enhances the anticonvulsant action of phenobarbital and valproate in the mouse maximal electroshock seizure model. *J Neural Transm*, In: Manipulations of the kindled amygdala. *Exp Neurol* 2008; 97:17-34.
137. Arıcıoğlu F, Regunathan S, Piletz J. Is agmatine an endogenous factor against stress? *Ann NY Acad Sci* 2003; 1009:127-132.
138. Gilad GM, Gilad VH. Accelerated functional recovery and neuroprotection by agmatine after spinal cord ischemia in rats. *Neurosci Lett* 2000; 296:97-100.
139. Feng Y, Piletz JE, Leblanc MH. Agmatine suppresses nitric oxide production and attenuates hypoxic-ischemic brain injury in neonatal rats. *Pediatr Res* 2002; 52:606-611.
140. Qiu WW, Zheng RY. Neuroprotective effects of receptor imidazoline 2 and its endogenous ligand agmatine. *Neurosci Bull* 2006; 22(3):187-191.
141. Raffa RB, Friderichs E, Reimann W, et al: Opioid and nonopioid components independently contribute to the mechanism of action of tramadol, an 'atypical' opioid analgesic. *J Pharmacol Exp Ther* 1992; 260: 275-285.
142. Raffa RB, Friderichs E, Reimann W: Complementary and synergistic antinociceptive interaction between the enantiomers of tramadol. *J Pharmacol Exp Ther* 1993; 267: 331-340.

143. Raffa RB, Friderichs E: Profile of tramadol and tramadol analog. In: C. Bountra, R. Munglani, K. Schmidt, Editors. Pain-Current Understanding, Emerging Therapies, and Novel Approaches to Drug Discovery. New York: Marcel Dekker, 2003. pp. 731-742.
144. Bamigbade TA, Langford RM: The clinical use of tramadol hydrochloride. Pain Reviews 1998; 5: 155-182.
145. Goeringer KE, Logan BK, Christian GD: Identification of tramadol and its metabolites in blood from drug-related deaths and drug-impaired drivers. J Anal Toxicol 1997; 21: 529-537.
146. Lee CR, McTavish D, Sorkin EM: Tramadol: a preliminary review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties, and therapeutic potential in acute and chronic pain states. Drugs 1993; 46: 313-340.
147. Collart L, Luthy C, Favario-Constantin C, Dayer P: Daulity of the analgesic effect of tramadol in humans. Schweiz Med Wochenscr 1993; 123: 2241-2243.
148. Desmoules JA, Piquet V, Collat L, Dayer P: Contribution of monoaminergic modulation to the analgesic effects of tramadol. Br J Clin Pharmacol 1996; 3: 249-247.
149. Rojas-Corrales MO, Gibert-Rahola J, Mico JA: Tramadol induces antidepressant-type effects in mice. Life Sci 1998; 63: 175-180.
150. Gasse C: Incidence of first-time idiopathic seizures in users of tramadol. Pharmacotherapy 2000; 20: 629-634.
151. Shipton EA: Tramadol-Present and Future. Anaest Intensive Care 2000; 28: 363-374.
152. Budd K, Langford R: Tramadol revisited. Editorial II. British J Anaesthesia 1999; 82: 493-495.
153. Ian WB: Tramadol and seizures. MJA 2005; 182: 595-596.
154. Aronson MD: Nonsteroidal anti-inflammatory drugs, traditional opioids, and tramadol: contrasting therapies for the treatment of chronic pain. Clin Ther 1997; 19: 420-432.
155. Garcia J, Altman RD: Chronic pain states: pathophysiology and medical therapy. Semin Arthritis Rheum 1997; 27: 1-16.
156. Uyar M, Eyigör C. Nöropatik ağrı tedavisinde non-opioid ve opioid ajan kullanımı. Ağrı 2008; 20(4); 6-16.
157. Keskinbora K, Aydınlı I. Atipik opioid analjezik: Tramadol. Ağrı 2006; 18(1); 5-19.
158. Tao Y, Fu Z, Zhang M, Xia G, Yang J, Xie H. Immunohistochemical localization of Inducible And Endothelial Nitric Oxide Synthase In Porcine Ovaries And Effects Of NO On Antrum Formation And Oocyte Meiotic Maturation. *Mol Cell Endocrinol*. 2004 Jul 30;222(1-2):93-103
159. Cooper GM, Hausman RE, The Cell, A Molecular Approach, 4. Ed. ASM Pres, Washington, USA. 2007; 603-641
160. Kılınç K, Kılınç A. *Nitrik Oksit: Biyolojik Fonksiyonları ve Toksik Etkileri*. Palme Yayıncılık, Ankara, 2004.
161. Bruhwylter J, Cnleide E, Liegeois JF, Carreer F. Nitric oxide: A new messenger in the brain. Neuroscience and Biobehavioral Reviews 1993; 17: 373-384.
162. Moncada S, Palmer RMJ, Higgs EA. Nitric oxide: Physiology, patophysiology, and pharmacology. Pharmacor Rev. 1991; 43(2): 109-142.

163. Abacıoğlu N., Özmen R, Çakıcı İ., et al. Role of L-Arginine/nitric oxide pathway in the antinociceptive activities of morphine and mepyramine in mice. *Arzneim.-Forsch./Drug Res* 2001; 51(II): 977-983.
164. Abacıoğlu N., Tunçtan B., Akbulut E., et al. Participation of chemically-induced abdominal constriction in the Mouse. *Life Sciences* 2000; 67: 1127-1137.
165. Millan MJ. The induction of pain:an integrative review. *Progress in Neurobiology* 1999, 57:1-164.
166. Kawabata A., Manabe S., Manabe Y., et al. Effect of topical administration of L-arginine on formalin induced nociception in the Mouse: a dual role of ppheripheral formed NO in pain modulation. *Br J Pharmacol* 1994, 112:547-550.
167. <http://www.fizikoterapi.com/index.php/ar-ve-tedavisi/ar-snflama/75-noeropatik-ar>
168. Andrew J Allchorne , Daniel C Süpürge , Clifford J Woolf. Detection of cold pain, cold allodynia and cold hyperalgesia in freely behaving rats, *Mol Pain*. 2005; 1
169. G. Ji, S. Zhou, M. Y. Kochukov, K. N. Westlund, S. M. Carlton. Plasticity in Intact Aδ- and C-Fibers Contributes to Cold Hypersensitivity in Neuropathic Rats. *Neuroscience*. 2007 November 30; 150(1): 182–193.
170. Lauren E Ta, Philip A Low, Anthony J Windebank. Mice with cisplatin and oxaliplatin-induced painful neuropathy develop distinct early responses to thermal stimuli. *Mol Pain*. 2009; 5
171. Jorum E, Warncke T, Stubhaug A. Cold allodynia and hyperalgesia in neuropathic pain: the effect of N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptor antagonist ketamine--a double-blind, cross-over comparison with alfentanil and placebo. *Pain*. 2003; 101 :229–235.
172. Rice ASC, Hill RG. New treatment for neuropathic pain. *Annu Rev Med* 2006; 7: 535–551.
173. Ely T. Conotoxins reveal significant psychopharmacological effectiveness: the future of pain management. *Journal of Psychology and Behavioral Sciences*, 2003; 17: 18-33
174. Zhuo M, Meller S, Gebhart G. Endogenous nitric oxide is required for tonic cholinergic inhibition of spinal mechanical transmission. *Pain* 1993;54:71-8.
175. Dambisya YM, Lee TL.Effects L-NG-nitro arginine methyl ester (L-NAME), L-NG-monomethyl arginine (L-NMMA) and L-arginine on the antinociceptive effects of morphine in mice.*Methods Find Exp Clin Pharmacol*. 1995 Nov;17(9):577-82.
176. Yoon YW, Sung B, Chung JM.Nitric oxide mediates behavioral signs of neuropathic pain in an experimental rat model.*Neuroreport*. 1998 Feb 16;9(3):367-72.
177. Ulugol A, Aslantas A, Karadag CH, Bulbul ED, Tuncer A, Dokmeci I. The effect of combined systemic administration of morphine and L-NAME, a nitric oxide synthase inhibitor, on behavioral signs of neuropathic pain in rats. *Neurosci Res Commun* 2002;30:143-53.
178. Lee DH, Singh JP, Lodge D. Experiments with nitric oxide synthase inhibitors in spinal nerve ligated rats provide no evidence of a role for nitric oxide in neuropathic mechanical allodynia. *Neurosci Lett* 2005;385:179-83.
179. Thomas DA, Ren K, Besse D, Ruda MA, Dubner R. Application of nitric oxide synthase inhibitor, N omega-nitro-L-arginine methyl ester, on injured nerve attenuates neuropathy-induced thermal hyperalgesia in rats. *Neurosci Lett*. 1996 May 31;210(2):124-6.

180. Okuducu H, Onal SA. Is nitric oxide involved in the antinociceptive activity of tramadol? Findings in rat model of neuropathic pain. *Agri*. 2005 Oct;17(4):31-40.
181. Karaaslan, Dilek; Peker, Tulay Tuncer; Karaaslan, Tamer; Ozmen, Sadik; Gultekin, Fatih; Savik, Emin. The role of nitric oxide on the analgesic effect of tramadol. *The Pain Clinic*, Volume 18, Number 2, 2006, pp. 123-130(8).
182. Pan HL, Chen SR, Eisenach JC. Role of spinal NO in antiallodynic effect of intrathecal clonidine in neuropathic rats. *Anesthesiology*. 1998 Dec;89(6):1518-23.
183. Duarte ID, Ferreira SH. L-NAME causes antinociception by stimulation of the arginine-NO-cGMP pathway. *Mediators Inflamm*. 2000;9(1):25-30.
184. Naik AK, Tandan SK, Kumar D, Dudhgaonkar SP. Nitric oxide and its modulators in chronic constriction injury-induced neuropathic pain in rats. *Eur J Pharmacol*. 2006 Jan 13;530(1-2):59-69.
185. Dableh LJ, Henry JL. The selective neuronal nitric oxide synthase inhibitor 7-nitroindazole has acute analgesic but not cumulative effects in a rat model of peripheral neuropathy. *J Pain Res*. 2011 Mar 31;4:85-90.
186. Sampson C, Zhang Y, Del Bello F, Li JX. Effects of imidazoline I2 receptor ligands on acute nociception in rats. *Neuroreport*. 2012 Jan 25;23(2):73-7.
187. Ruiz-Durantez E, Llorente J, Ulibarri I, Pineda J, Ugedo L. Agmatine-morphine interaction on nociception in mice. *Ann N Y Acad Sci*. 2003 Dec;1009:133-6.
188. Babbedge RC, Hart SL, Moore PK. Anti-nociceptive activity of nitric oxide synthase inhibitors in the mouse: dissociation between the effect of L-NAME and L-NMMA. *J Pharm Pharmacol*. 1993 Jan;45(1):77-9.
189. Thorn DA, Zhang Y, Peng BW, Winter JC, Li JX. Effects of imidazoline I2 receptor ligands on morphine- and tramadol-induced antinociception in rats. *Eur J Pharmacol*. 2011 Nov 30;670(2-3):435-40.
190. Onal A, Delen Y, Ulker S, Soykan N. Agmatine attenuates neuropathic pain in rats: possible mediation of nitric oxide and noradrenergic activity in the brainstem and cerebellum. *Life Sci*. 2003 Jun 13;73(4):413-28.

8. ÖZGEÇMİŞ

1982 yılında Adana'da doğdum. İlköğretim ve lise öğrenimini Adana'da tamamladım. 2005 yılında Çukurova Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümünden mezun oldum. 2005 yılının Eylül ayında Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmakoloji Anabilim Dalı'nda 'Yüksek Lisans' eğitimine başladım. 2008 yılının ocak ayında 'Yüksek Lisans' eğitimimi tamamlayarak, Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmakoloji Anabilim Dalı'nda 'Doktora' eğitimime başladım. Evliyim ve bir kız çocuğu sahibiyim.