

T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ANESTEZİYOLOJİ VE REANİMASYON
ANABİLİM DALI

DENEYSEL NÖROPATİK AĞRI MODELİNDE LOKAL UYGULANAN
NGF VE ANTI-NGF'NİN ETKİSİ

Dr. MİTHAT KAHRAMANOĞLU

UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN

Prof. Dr. S. ATEŞ ÖNAL

Bu çalışma FÜBAP (Proje no: 1237) tarafından desteklenmiştir.

ELAZIĞ 2006

DEKANLIK ONAYI

Prof. Dr.

DEKAN

Bu tez Uzmanlık Tezi standartlarına uygun bulunmuştur.

Prof. Dr. Ömer Lütfi ERHAN

Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı Başkanı

Tez tarafımızdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Selami Ateş ÖNAL -----

Danışman

Uzmanlık Sınavı Jüri Üyeleri

.....
.....
.....
.....
.....

TEŞEKKÜR

Araştırma görevlisi olarak çalıştığım süre boyunca bilgi ve tecrübelerini bizlerle paylaşan ve yetişmemizde yardımcı olan Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Ömer Lütfi ERHAN'a teşekkür ve saygılarımı sunarım.

Uzmanlık eğitimim boyunca ve tezimin hazırlanması sırasında her türlü destek ve yardımlarından dolayı Prof. Dr. S. Ateş ÖNAL'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Asistanlık görev sürem boyunca desteklerini gördüğüm, yardımlarını esirgemeyen Prof. Dr. M. Akif YAŞAR'a, Prof. Dr. Mustafa Kemal BAYAR'a ve Yrd. Doç. Dr. Azize BEŞTAŞ'a teşekkürlerimi sunarım.

Uzmanlık eğitimim boyunca beraber çalıştığım araştırma görevlisi arkadaşlarıma, ameliyathane, Anestezi Yoğun Bakım ve Algoloji kliniği çalışanlarına teşekkür ederim.

Tezimin farklı aşamalarında yardımlarını gördüğüm Dr. Kürşat GÜL'e, Dr. Adem YAVUZ'a ve FÜTDAM personeli Veysel ÇAK'a teşekkür ederim.

Asistanlık görevim boyunca yanımda olan ve yardımlarını esirgemeyen eşim Sultan'a ayrıca teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

1. ÖZET.....	1
2. ABSTRACT.....	3
3. GİRİŞ.....	5
3.1. AĞRI.....	5
3.1.1. Ağrı Mekanizmaları.....	7
3.1.2. Antinosiseptif İnici Sistemler.....	10
3.1.3. Ağrının Kimyasal Mediyatörleri.....	11
3.2. NÖROPATİK AĞRI.....	12
3.2.1. Nöropatik Ağrı Mekanizmaları.....	15
3.2.1.1. Periferik Mekanizmalar.....	15
3.2.1.2. Spinal ve Supraspinal Mekanizmalar.....	16
3.2.2. Klinik Özellikler.....	18
3.2.3. Tanı.....	19
3.2.4. Tedavi.....	19
3.3. NGF.....	20
3.3.1. Yapısı.....	21
3.3.2. Reseptörleri.....	22
3.3.2.1. P75 Reseptörü.....	22
3.3.2.2. Trk A Reseptörü.....	23
3.3.3. Santral Sinir Sisteminde Nörotropinler ve Reseptörleri.....	24
3.3.4. Periferik Sinir Sisteminde Nörotropinler ve Reseptörleri.....	25
3.3.5. Nöropati, Nöropatik Ağrı ve NGF.....	26
3.4. HAYVANLARDA AĞRI MODELLERİ.....	27
3.4.1. Termal Testler.....	28
3.4.2. Mekanik Testler.....	30
3.4.3. Kimyasal Testler.....	31
3.5. HAYVANLARDA NÖROPATİK AĞRI MODELLERİ.....	31
3.6. NÖROPATİK AĞRI MODELLERİNDE DAVRANIŞLAR.....	33
4. GEREÇ VE YÖNTEM.....	35
4.1. DENEKLER.....	35
4.2. CERRAHİ İŞLEM.....	35
4.3. OPERE DENEKLERDE NÖROPATİ OLUŞUMU.....	37
4.4. İLAÇLAR VE ENJEKSİYON.....	37

4.5. İLAÇ ETKİLERİNİN ÖLÇÜMÜ.....	38
4.5.1. Mekaniksel Ağrı Eşiği Ölçümü.....	38
4.5.2. Termal Ağrı Eşiği Ölçümü.....	39
4.5.2.1. Sıcak Ağrı Eşiği Ölçümü (Hot Plate Testi).....	39
4.5.2.2. Soğuk Ağrı Eşiği Ölçümü.....	40
4.6. İstatistiksel Değerlendirmeler.....	41
5. BULGULAR.....	42
6. TARTIŞMA.....	46
7. KAYNAKLAR.....	58
8. ÖZGEÇMİŞ	67

KISALTMALAR

AIDS:	Edinilmiş Bağışıklık Yetmezliği Sendromu
Anti-NGF:	Anti-Sinir Büyütücü Faktör
ATP:	Adenozin Trifosfat
BDNF:	Beyinden Türetilmiş Nörotropik Faktör
CCI:	Chronic Constriction Injury-Kronik Sıkıştırma Hasarı
CCK:	Kolesistokinin
CGRP:	Kalsitonin Gen Düzenleyici Peptit
DM:	Diabetes Mellitus
DRG:	Dorsal Kök Gangliyonu
EGF:	Epidermal Büyütücü Faktör
GABA:	Gamma Amino Bütirik Asit
5-HT:	Serotonin
IASP:	Uluslararası Ağrı Araştırma Derneği
MA:	Mekanik Allodini
MAPK:	Mitojen Aktive Edici Protein Kinaz
MH:	Mekanik Hiperalezi
MS:	Medulla Spinalis
NGF:	Sinir Büyütücü Faktör
NMDA:	N-Metil D Aspartat
NT:	Nörotropin
PGE2:	Prostaglandin E2
PSNL:	Parsiyel Siyatik Sinir Ligasyonu
SıH:	Sıcak Hiperalezi
SNL:	Spinal Sinir Ligasyonu
SoA:	Soğuk Allodini
SSS:	Santral Sinir Sistemi
TENS:	Transkutan Elektriksel Sinir Stimölasyonu
TNF:	Tümör Nekrotizan Faktör
TrkA:	Tirozin Kinaz A

1.ÖZET

Sinir sisteminin herhangi bir bölümünün hasarı ve/veya disfonksiyonundan kaynaklanan nöropatik ağrıdan sorumlu birçok patofizyolojik mekanizma saptanmıştır. Çalışmalarda NGF'nin nöropatik ağrı mekanizmalarında önemli rol oynadığı saptanmıştır. Bu çalışmada deneysel nöropatik ağrı modelinde lokal uygulanan NGF ve anti-NGF'nin etkilerini görmeyi amaçladık.

Yerel etik kurul onayı ile wistar albino türü, 200-250 gram ağırlığında 24 sıçan çalışmaya alındı. Denekler gelişigüzel altışarlı dört gruba ayrıldı. Deneyin ilk günü deneklerin mekanotermal bazal ağrı eşikleri ölçüldü. Kontrol grubuna cerrahi işlem uygulanmazken SF, NGF ve Anti-NGF gruplarına CCI modeli uygulandı. Daha sonraki günlerde SF, NGF ve Anti-NGF gruplarında nöropati gelişimi değerlendirildi. Postoperatif 21. günde nöropati saptandı. Bu aşamadan sonra Kontrol grubuna ilaç uygulanmazken, SF grubundaki deneklerin hasarlı bölgesine 28 gün lokal serum fizyolojik solüsyonu uygulandı. NGF grubundaki deneklerin hasarlı bacağına 28 gün boyunca lokal NGF solüsyonu (0.75 nanogram/gram=150 nanogram) uygulandı. Anti-NGF grubundaki deneklerin hasarlı bacağına 28 gün boyunca lokal anti-NGF solüsyonu (90 pikogram/gram=18 nanogram) uygulandı. 21. günden itibaren tüm grupların mekanotermal ağrı eşikleri kaydedildi.

Lokal uyguladığımız NGF nöropatik hasara bağlı mekanik, sıcak ve soğuk hiperaljeziyi sırasıyla postoperatif 24-35, 23-30 ve 25-33. günler arası arttırdı. Lokal uyguladığımız anti-NGF nöropatik hasarla oluşan mekanik, sıcak ve soğuk hiperaljeziyi sırasıyla 24-35, 25-32 ve 27-31. günler arası engelledi. Serum fizyolojik solüsyonu, hasara bağlı oluşan hiperaljezik yanıtı değiştirmede.

Nöropatik hasarda lokal uygulanan NGF nosiseptif etki göstererek hasarla oluşan mekanik ve termal hiperaljezik yanıtı arttırmaktadır. Lokal uygulanan anti-

NGF, antinosiseptif etki ile hiperaljezik yanıtı engellemektedir. NGF'nin çalışmalarla kanıtlanan nöroprotektif ve regülatör etkilerinin bu sonuçlarda etkili olduğunu düşünmekteyiz.

Anahtar Kelimeler: Nöropatik ağrı, NGF, anti-NGF, hiperaljezi

THE EFFECT OF LOCALLY APPLIED NGF AND ANTI-NGF IN EXPERIMENTAL NEUROPATHIC PAIN MODEL

2. ABSTRACT

Several pathophysiological mechanisms have been determined for the neuropathic pain resulting from damage and/or dysfunction of the any part of nervous system. NGF do have an important role in neuropathic pain mechanisms. In this study we aimed to investigate the effects of locally applied NGF and anti-NGF in experimental neuropathic pain model.

Upon local ethic commitee approval, 24 Wistar albino rats, weighting about 200-250 g, were set in this study. Wistar albino rats were randomly divided into four groups. Mechanothermal basal pain thresholds of the rats were measured in initial day of the experiment. CCI model was applied to SF, NGF and anti-NGF groups while surgical procedure wasn't applied to control group. Neuropathic process was evaluated in SF, NGF and anti-NGF groups in the following days. Neuropathy was determined in the postoperative 21st. day. Following this procedure saline was applied locally to damaged region of the rats in SF group for 28 days while any drug wasn't applied to control group. Local NGF solution (0.75 nanogram/gr =150 nanogram) was applied to damaged hindpaw of the rats in NGF group for 28 days. Local anti-NGF solution (90 picogram/gram =18 nanogram) was applied to damaged hindpaw of the rats in anti-NGF group for 28 days. All groups' mechanothermal pain thresholds were recorded since 21st. day for each subject.

It has been noted that locally applied NGF increased mechanical and thermal (heat and cold) hyperalgesia due to neuropathic injury, in postop. Days 24-35, 23-30 and 25-33. respectively. Moreover locally applied anti-NGF blocked mechanical and thermal (heat and cold) hyperalgesia due to neuropathic injury in postop. Days 24-

35, 25-32 and 27-31. respectively. However saline did not have any effect on hyperalgesic response.

In conclusion; locally applied NGF increase of mechanical and thermal hyperalgesic response due to its nociceptive effect. In this study these data were supported by antinociceptive effect of anti-NGF. We assume that neuroprotective and regulatory effect of NGF, which has been proved in previous studies is playing role of these results.

Key Words: Neuropathic pain, NGF, anti-NGF, hyperalgesia

3. GİRİŞ

Nöropatik ağrı, sinir sisteminin herhangi bir bölümünün hasarı ve/veya disfonksiyonundan kaynaklanmaktadır. Spontan yanma, hiperaljezi ve allodini ile karakterize klinik bir durumdur. Nöropatik ağrı, periferel ve santral komponenti olan kompleks bir durumdur (1). Çeşitli insan ve hayvan çalışmalarında nöropatik ağrının fizyopatolojisi açıklanmaya çalışılmış, tedavi seçenekleri geliştirilmiş olsa da günümüzde halen tam olarak yeterli analjezi sağlanamamıştır. Antidepresanlar, antikonvülzanlar, antiaritmikler ve opioidler nöropatik ağrı tedavisinde halen kullanılmakta olan ilaçlardan bazılarıdır (1, 2).

NGF (Sinir Büyütücü Faktör-Nerve Growth Factor) nörotropin ailesinin en önemli üyesidir. Son zamanlarda yapılan çalışmalarda NGF'nin nöropatik ağrıdaki rolüne önem verilmektedir. Nöropatik ağrıda NGF'nin hiperaljezik etkilerini vurgulayan yayınlar olması yanında, nöropatiyi önlediğini belirten yayınlara da rastlanmaktadır. NGF'nin nöropatik hasar alanında artarak direkt etki ile nöronal filizlenmeyi arttırdığı saptanmıştır (3). Bunun yanında regülatör etkisi sonucu indirekt etki ile bölgede P maddesi, CGRP (Kalsitonin Gen Düzenleyici Peptit) gibi faktörleri arttırmaktadır (4, 5). Tüm bu etkileri düşünüldüğünde NGF'nin nöropatik ağrıda rolünün önemi daha da iyi anlaşılmaktadır.

Deneysel nöropatik ağrı oluşturduğumuz çalışmamızda NGF'nin ve anti-NGF'nin etkilerini görmeyi amaçladık.

3.1. AĞRI

Ağrı, Latince'de poena (ceza, intikam, işkence) sözcüğünden köken alan ve tanımlanması oldukça güç olan bir kavramdır. IASP (Uluslararası Ağrı Araştırma Derneği) Taksonomi Komitesi tarafından 1979 yılında yapılan tanımlamaya göre ağrı; var olan veya olası bir doku hasarına eşlik eden veya bu hasar ile

tanımlanabilen, hoş gitmeyen duyuşsal ve emosyonel deneyimdir. Bu tanımlamada ağrının objektif, subjektif, emosyonel ve psikolojik yönlerinin biraraya getirildiği belirgindir. Ağrı kişiden kişiyeye değişebildiği gibi aynı kişide değişik zamanlarda da değişebilmektedir. Ağrı nörofizyolojik, biyokimyasal, psikolojik, etnokültürel, dinsel, bilişsel, ruhsal ve çevresel etkenlere bağlıdır (6, 7).

Nosisepsiyon terimi noci (Lat. zarar, yara)'den gelme olup, travmatik veya ağrılı uyaranlara (noxious stimuli) nöral yanıtı belirlemektedir. Tüm nosisepsiyonlar ağrıyı oluşturur, fakat tüm ağrılar nosisepsiyon sonucu değildir. Noksiyus stimulus olmasa da bazı hastalar ağrıdan yakınmaktadır (7). Buna göre klinik ağrıyı iki kategoriden birine koymak olasıdır:

a. Akut ağrı, primer olarak nosisepsiyona bağlıdır.

b. Kronik ağrı, nosisepsiyona bağlı olabilir; ancak psikolojik ve davranışsal faktörler önemli rol oynamaktadır.

Normal fizyolojik koşullarda ağrı ve nosisepsiyon hoş olmayan bir algılama olarak kabul edilse de, amacı organizmayı zararlı bir saldırıdan korumaktır ve bununla ilişkili savunma mekanizmalarını ortaya çıkarmaktır. Ancak nörolojik olan veya olmayan birçok hastalık ve durumlarda ağrı, bir fizyolojik savunma mekanizması olmaktan çıkarak, kişinin belli başlı tek yakınma nedeni haline gelebilir. Hatta nosisepsiyon böylesi durumlarda organizma aleyhine çalışabilir. Bu gibi durumlardaki ağrı patolojik ağrı olarak tarif edilmektedir (8).

Ağrıyı; fizyopatolojisine (nositif veya nöropatik ağrı), etyolojisine (postoperatif ağrı veya kanser ağrısı) veya etkilendiği yere göre (bel ağrısı, baş ağrısı pelvik ağrı, karın ağrısı) sınıflandırmak olasıdır. Böyle bir sınıflandırmada ağrı tedavisinde yöntem ve ilaç belirlemede yol gösterici olmaktadır. Nositif ağrı,

noksiyus stimuluslardan etkilenen özgün reseptörler olan periferik reseptörlerin aktivasyonu veya sensitizasyonu sonucu oluşmaktadır (6, 7).

3.1.1. Ağrı Mekanizmaları

Uzamış travma ve doku harabiyeti gibi ağrılı bir uyarana beş aşamada üst merkezlere doğru bir yol izler. Bunlar transdüksiyon, transmisyon, modülasyon, persepsiyon ve ekspresyon olarak sıralanabilir (2).

Transdüksiyon: Bir enerjinin başka bir enerjiye dönüşmesidir. Ağrı nosiseptör adı verilen, periferik terminalleri ağrılı uyarana duyarlı afferent sinir uçları tarafından algılanır (2). Bu sinir uçları ince miyelinsiz C lifleri ve miyelinli A delta liflerinin distal uzantılarıdır. A delta liflerinin uçları olan nosiseptörler termal ve mekanik nosiseptörler; C liflerinin uçları olan nosiseptörler ise mekanik, termal, kimyasal, sıcak ve soğuk gibi birçok uyarana ile aktive olduklarından polimodal nosiseptörler adını alırlar (8). Transdüksiyon nosiseptörlerinin bir uyarana ortamdaki fiziksel ve kimyasal değişikliklerin etkisi ile daha duyarlı hale gelmesini ifade eder. Nosiseptörler normal bir ısıya karşı duyarsızken ısının artışı ile daha duyarlı hale gelir (2). Nosiseptör aktivasyonu sürecinde çeşitli etkenler devreye girer. Örneğin, bir cilt hasarını takiben tahrip olan bölgelerde makrofaj, lenfosit ve mast hücrelerinden çeşitli intraselüler maddeler salınır. Bunların bazıları potasyum, serotonin, bradikinin, histamin, prostaglandinler ve lökotrienlerdir. Salınan bu maddeler ve nosiseptör uçlarından salınan P maddesi, nörokinin A, CGRP gibi nöropeptitlerin etkisiyle nosiseptörlerin uyarılma eşikleri düşer. Periferik sensitizasyon denilen bu olay sonunda düşük şiddetteki mekanik uyarılar normalde ağrı oluşturmazken ağrılı olarak algılanmaya başlarlar.

Transmisyon: Nosiseptörler tarafından algılanan ağrı bilgisinin üst merkezlere doğru iletilmesidir. Nosiseptörlerin uyarılmasıyla başlayan ağrı üst

merkezlere A delta ve C lifleriyle taşınır (2). A delta lifleri, miyelinli lifler olup impulsları hızlı iletirler. C tipi lifler ise çok ince, miyelinsiz liflerdir ve impulsları çok düşük hızda iletirler. Ağrıyı ileten bu lifler arka kök gangliyonunda sinaps yaptıktan sonra arka kökler ile medulla spinalise (MS) girerler. MS'de arka boynuzun hemen gerisinde yer alan Lissauer traktusunda, birkaç segment yukarı veya aşağı inerler (9). Diğer sinir lifleri de çeşitli biçimlerde ağrı iletimine katılır. Temel olarak dokunma duyusuna duyarlı A beta lifleri de zaman zaman ağrı iletiminde rol alır (9).

Modülasyon: Başlıca medulla spinalis seviyesinde gerçekleşmektedir. Ağrılı uyaran spinal kord düzeyinde bir değişime uğramakta ve bu değişim sonunda uyarı daha üst merkezlere iletilmektedir (1). MS dorsal boynuzunda ağrı iletimi ve modülasyonunda yer alan çeşitli nöronlar ve laminalar vardır. Afferent lifler dorsal kökte birinci sıra nöronlar ile sinaps yaparlar. Birinci sıra nöronların aksonları dorsal boynuza girdikten sonra dorsal boynuzdaki sekonder nöronlar (ikinci sıra nöronlar) ile sinaps yapar (10). Dorsal boynuzda bulunan nöronlar başlıca üç grupta incelenebilir: a)Projeksiyon nöronları, b)inhibitör ara nöronlar, c)lokal eksitator ara nöronlar (8). Dorsal boynuz, hücre tipleri, afferent-efferent bağlantıları ve biyokimyasal özelliklerine göre on adet laminaya ayrılır. Rexed laminaları da denen bu laminalarda spesifik reseptör-sinir lifi üniteleri tanımlanmıştır (10, 11). Lamina I, II, III ve V ağrının algılanmasında daha belirgin rol almaktadır (9, 11).

Geçmişte MS'nin ağrının Santral Sinir Sistemi'ne (SSS) iletilmesinde yalnızca bir ara durak olarak görev yaptığına inanılmaktaydı. Ancak 1965 yılında Melzack ve Wall tarafından ileri sürülen Kapı Kontrol Teorisi ile ağrılı uyarının MS'de önemli bir engelle karşılaştığı ve modülasyona uğradığı anlaşılmıştır (2).

Kapı Kontrol Teorisi'ne göre periferden gelen uyarılar; dorsal kordon, arka boynuz santral transmision hücreleri (T hücreleri) ve substantia gelatinoza (lamina I ve II) olmak üzere üç değişik sisteme iletilir. Substantia gelatinozadaki kapı hücreleri, kalın ve ince çaplı sinir lifleri tarafından taşınan uyarıları presinaptik uçta inhibe ederler. C lifleri substantia gelatinozanın bu inhibisyon etkisini inhibe ederek kapının açık kalmasını, uyarıların T hücrelerine iletilmesini, dolayısıyla ağrının SSS'de değişik yapılara projekte olmasını sağlarlar. Kalın çaplı lifler ise substantia gelatinozanın ağrı üzerindeki inhibe edici etkisini stimüle ederler, kapıyı kapalı tutarak ağrıların T hücrelerine iletilmesini önlerler. İnce çaplı C lifleri kalın çaplı liflerin bu fonksiyonunu inhibe eder. Beyin sapında yer alan diğer analjezi sistemi ve kognitif fonksiyonlar da substantia gelatinozanın etkisini potansiyalize eder (2, 9).

Persepsiyon: Omurilikten geçen uyarının çeşitli çıkan yollar aracılığı ile üst merkezlere doğru iletilip ağrının algılanmasıdır (2). Ağrılı impulslar sinir sisteminin üst merkezlerine nosiseptif çıkıcı sistemler ile iletilir. Bunların başlıcaları spinotalamik yol, spinoretiküler yol ve spinomezensefalik yoldur (8). Spinomezensefalik yol antinosiseptif mekanizmalar içinde yer alır (8). MS'de yer alan dorsal funikulus, spinohipotalamik, spinotelensefalik ve spinoservikal traktuslar da ağrılı impulsları iletme özelliğine sahiptir. Ancak birinci derecede önem taşımazlar (8, 10).

Ağrı olayı ile serebral korteks ilişkisi tam olarak anlaşılamamıştır. Beyinde birinci ve ikinci duyuşsal alanlar, frontal lob, özellikle 9. ve 12. alanları ve posteriyor pariyetal bölgeler ile bu bölgeler arasındaki assosiyasyon lifleri ağrıyla ilişkilidir. Özellikle birinci duyuşsal alan (postsentral girus) ağrının hızlı algılandığı merkezdir. Bu bölgenin lezyonlarında diğer duyuşsal bozukluklar ile birlikte hipoaljezi durumu ortaya çıkar (8).

Ekspresyon: Kortekste değerlendirilen bilginin hasar bölgesine projekte edilmesi ve kişi tarafından dile getirilmesi olayıdır. Bunun sonucunda bir ağrı davranışı sergilenmektedir (12).

Bu aşamalar ağrı mekanizmasında yer alan anatomik, biyokimyasal ve fizyolojik yapıların karmaşık fonksiyonları sonucunda gerçekleşir.

3.1.2. Antinosiseptif İnici Sistemler

Antinosiseptif inici sistem SSS'den başlayan ve ağrının yukarı merkezlere iletilmesini önleyen sistemlerdir (9). Ağrı mekanizmalarını tam olarak anlayabilmek için bu sistemlerin incelenmesi gereklidir. Bu sistem başlıca üç grup içerisinde incelenir.

1. Mezensefalik periaduktal gri cevherde yer alan enkefalinerjik nöronlar: Serebral korteks ve hipotalamus ile bağlantı içindedirler ve muhtemelen hipotalamik nöronlar endorfin salgırlar. Bu yapılar, bulbusta nukleus rafe magnus ve nukleus retikularis gigantosellülarisde bulunan serotoninerjik nöronlar ile sinaps yaparlar (9). Serotoninerjik nöronlar MS'de dorsolateral funikulus içinden inerek dorsal boynuzda projeksiyon nöronları üzerine presinaptik ve postsinaptik olarak inhibisyon meydana getiriler (8).

2. Bulbus ve ponsdaki nukleusların temel nörotransmitterleri noradrenalindir. Bu nöronların uzantıları da dorsal funikulus içerisinde inerek projeksiyon nöronlarını inhibe ederler (8).

3. Antinosiseptif spinal segment üçüncü bir inhibitör sistemdir. Burada özellikle spinal yerleşimli enkefalinerjik nöronlar önemli rol oynar. Dinorfin taşıyan nöronlar da bu bölgede yer alır. Lokal enkefalinerjik nöronlar hem C hem de A delta liflerinden gelen kollateraller ile eskite olur ve böylece hem presinaptik bir mekanizmayla hem de postsinaptik olarak projeksiyon nöronunda inhibisyon yapar.

Spinal enkefalinerjik nöronlar serotonin ve noradrenalin taşıyan inisi inhibitör sistemlerin eksitasyonu ile de primer afferent sinapslar üzerine inhibisyon meydana getirir (8).

Monoaminerjik ve enkefalinerjik antinosseptif sistemler, projeksiyon nöronlarında hücresel düzeyde potasyumun membran iletkenliğini arttırarak ve hiperpolarizasyon meydana getirerek etki ederler (8, 13). Ayrıca genel inhibitör madde olan Gamma Amino Bütirik Asit'in de (GABA) antinosseptif mekanizmalara katıldığı düşünülür. Bunların dışında somatostatin ve bombesin gibi periferik veya ara nöronlardan çıkan nöropeptitlerin de inhibitör etkiler yaptığı gösterilmiştir (8).

Projeksiyon nöronları üzerine hızlı ve kısa süreli inhibisyon en çok monoaminerjik transmitterler [NE (Norepinefrin) ve 5-HT (Serotonin)], GABA ve enkefalin ile olur. Daha uzun süreli inhibisyon endorfin, kısmen enkefalin ve somatostatin ile meydana gelir (8).

3.1.3. Ağrının Kimyasal Mediyatörleri

Ağrıyı ileten afferent nöronlara pek çok nöropeptitler ve eksitatör aminoasitler nörotransmitter olarak aracılık ederler. Nöronların pek çoğu eşzamanlı olarak salınan birden fazla nörotransmitter içerir. Çok kere bir nöron birçok nörotransmitter tarafından uyarılır. Nörotransmitter görevi gören moleküller, ağrının iletiminde ve algılanmasında eksitatör veya inhibitör etki gösterebilirler (10).

Eksitatör etki gösterenler P maddesi, CGRP, glutamat, aspartat, adenosin trifosfat (ATP), sitokinler [İnterlökin-1 β , İnterlökin-6, Tümör Nekrotizan Faktör (TNF)- α] ve kolesistokinin (CCK) olarak sayılabilir. Glutamat en önemli eksitatör aminoasittir (10, 13).

İnhibitör etki gösterenler enkefalinler, β -endorfin, NE, 5-HT, adenozin, somatostatin, asetilkolin, GABA, glisin, galanin, nöropeptit Y, sitokinler (interlökin-2) ve nosiseptin olarak sıralanabilir (10, 13).

3.2. NÖROPATİK AĞRI

Genel olarak sinir sisteminin herhangi bir bölümünün hasarı ve/veya disfonksiyonundan kaynaklanan ağrılara nöropatik ağrı denir (1, 9, 14, 15, 16). Vücudun herhangi bir yerinde ortaya çıkan nöropatik ağrı periferik sinir sisteminden, santral sinir sisteminden ya da otonom sinir sisteminden kaynaklanabilir. Kaynaklandıkları bölgelere göre santral kaynaklı nöropatik ağrı ya da periferik kaynaklı nöropatik ağrı olarak sınıflandırılabilir (1). Santral sinir sisteminde hangi lezyonun primer ağrı sebebi olduğu sıralanmıştır (Tablo 1). Periferik nöropatiler periferik sinirlerin diabetes mellitus, herpes zoster gibi hastalıklarında; sinir basısı ya da hasarının veya inflamasyonunun bulunduğu durumlarda ortaya çıkar. Klinik olarak periferik nöropati ile santral nöropati bu kadar keskin sınırlar ile birbirinden ayrılamamaktadır. Zaman içerisinde periferik nöropatiler santralize olabilmektedirler (1, 16). Ağrının, hasarın iyileşmesinden hemen sonra ya da üç aydan daha fazla sürede ortaya çıkmasına bağlı olarak akut nöropatik ağrı ya da kronik nöropatik ağrı olarak da ayrılabilir (14).

Sinir sisteminde hasara neden olan birçok nedenle nöropatik ağrı oluşabilir. Etyolojilerine göre nöropatik ağrıları simetrik veya asimetric olarak gruplandırmak mümkündür (Tablo 2, 3). Tüm bu sınıflamalar yeterli olmamaktadır, periferik veya santral sinir sistemindeki fizyopatolojik değişikliklere bağlı gelişen duyuşsal anormallikleri tanımlayabilecek semptomları ifade eden tamamlayıcı sınıflandırmalara ihtiyaç vardır (7).

Tablo 1. Nöropatik Ağrıda Santral Nedenler

<p>1. Tipik olarak talamus, spinotalamik yolak veya talamokortikal projeksiyonlarda oluşan iskemi, hemoraji veya arteryovenöz malformasyonlar</p> <p>2. Omurilik hasarı</p> <p>3. SSS’de inflamatuvar hastalık (multipl skleroz, miyelit, sifiliz)</p> <p>4. Siringomiyeli</p>
--

Tablo 2. Nöropatik Hastalıklarda Simetrik Ağrılı Polinöropatiler

<p>1. Metabolik (DM, pellegra, beriberi)</p> <p>2. Toksik (Sitostatik ilaçlar, izoniazid, thalyum, arsenik, civa)</p> <p>3. İmmünolojik (Akut/kronik demiyelinizan inflamatuvar nöropatiler, akkiz amiloidoz, Sjögren hastalığı ile görülen nöropati, akut pandisotonomi)</p> <p>4. Kalıtsal (Kalıtsal duyuşal nöropatiler, Fabry hastalığı)</p>
--

Tablo 3. Asimetrik ve Fokal Nöropatiler

1. Kraniyal Nevraljiler	b. Servikobrakial veya lumbosakral
a. Trigeminal nevralsi	pleksus idiyopatik nevralsi
b. Glossofaringeal nevralsi	c. Radyasyona bağlı
c. Laringeal nevralsi	5. Diyabetik mono/oligonöropatiler
2. Sinir basısı	a. Akut oftalmopleji
a. Posttravmatik	b. Akut torakoabdominal nöropati
b. Karpal tünel	c. Akut diyabetik radikülopleksönöropati
c. Meraljia parestetika	(diyabetik amyotrofi)
d. Kök basısı (disk hernisi)	6. Anjiyonöropatik nöropatiler
3. Nöroma	a. İnflamatuvar
a. Posttravmatik	b. Oklüzif/iskemik
b. Postoperatif	7. İnfeksiyöz/parainfeksiyöz nöropatiler
c. Amputasyon sonrası	a. Postherpetik
d. Morton nevralsisi	b. Borreliyozis
4. Pleksus nöropatileri	c. Sifiliz
a. Posttravmatik	d. Herpes simpleks
	e. AIDS

3.2.1. Nöropatik Ağrı Mekanizmaları

Nöropatik ağrı oluşumunda etkili olan mekanizmalar henüz tam olarak aydınlatılmamıştır (1, 16, 17). Periferik ve santral mekanizmalar etkili olmaktadır (2, 9). Periferik sinir hasarı ile oluşan patofizyolojik değişiklikler santral sinir sistemini direkt olarak etkilemekte ve ikincil periferik olaylara neden olmaktadır (1, 16).

3.2.1.1. Periferik Mekanizmalar

Sinir hasarı sonrası periferde nosisepsiyona karşı ağrı eşiğinde düşme meydana gelir. Sinir kesisini takiben nöronal hücrede atrofiden rejenerasyona kadar gidebilen bir seri değişiklikler meydana gelir. Ayrıca sinir kesisine bağlı olarak gen ekspresyonunda da değişiklikler meydana gelir. Bu da patolojik uyarılabilirlik gibi kompleks olaylar ile sonuçlanır (1, 16, 17).

Sinir hasarı ektojik deşarjlara yol açmaktadır (1, 14, 16, 17). Sinir lifininin hasarlanmış ucunda filizlenmeler meydana gelmektedir. Filizlenmelerin oluştuğu sinirler çeşitli kimyasal maddeler (histamin, bradikinin, serotonin) ile uyarıldıklarında abartılı yanıtlar vermektedirler (16, 17). Reinnervasyon önlenirse nöroma oluşmaktadır. Nöroma afferent hipereksitabilite alanıdır ve ektojik deşarjların kaynağıdır. Nöromalarda sodyum kanalları aşırı bir şekilde artar. Sodyum kanallarındaki bu artış nöroma ve dorsal kök gangliyonundaki (DRG) kendi kendine ektojik deşarjların kaynağıdır (16, 17). Sinir filizlenmeleri ve nöromalarda yüzey reseptörlerindeki modifikasyonlar ya da reseptörlerin immatür olmaları da anormal duyarlılık ve ektojik deşarjların nedeni olabilir (16). Ektojik deşarjların oluşmasına potasyum kanallarının posttranslasyonel modifikasyonu ya da gen ekspresyonundaki azalmanın yol açtığı potasyum içeriğindeki azalma da katkıda bulunur (16, 17).

Sinir hasarı sonucu meydana gelen gen ekspresyonundaki değişikliklere bağlı olarak bazı A liflerinde fenotipik değişim meydana gelir. Normalde ağrı iletiminde rol almayan A beta lifleri nosiseptif bir fenotip kazanır (17).

3.2.1.2. Spinal ve Supraspinal Mekanizmalar

Periferik sinir sisteminin hasarı aynı zamanda dorsal boynuz hücrelerinde ve supraspinal düzeyde çeşitli değişikliklere yol açar. Bu değişiklikler dorsal boynuz nöronlarının artmış eksitasyonu ve normal inhibitör kontrol mekanizmasının bozulması şeklinde özetlenebilir.

Sinir hasarı dorsal kök gangliyonu (DRG-Dorsal Root Ganglion) ve dorsal boynuz nöronlarında transkripsiyonel değişikliklere neden olur. Dorsal boynuz nöronlarında reseptör miktarı ve santral transmitter seviyesinde değişiklikler meydana gelir. Bu değişiklikler sonucu wind-up, santral sensitizasyon ve uzun süreli polarizasyon olarak tarif edilen durumlar ortaya çıkar (2, 17). Wind-up, C liflerinin sürekli uyarılmalarının sonucunda N-Metil-D-Aspartat (NMDA) reseptörlerinde voltaj bağımlı magnezyum bloğunun kalkmasının sonucudur. Santral sensitizasyon ise dorsal boynuzda posttranslasyonel değişikliklerin bir sonucudur ve santral sensitize olmuş nöronlar uyarılara saatler sonra bile duyarlıdırlar. NMDA reseptörlerinde posttranslasyonel değişiklikler sonucunda hücrede depolarizasyon yokken magnezyum bloğu ortadan kalkar, kanal kinetiklerindeki değişiklikler sonucunda kanalların açık kalma süreleri uzar. Dorsal boynuz nöronlarının uyarılma eşikleri düşer. Postsinaptik dorsal boynuz nöronları kendi aktivitelerini prostaglandinler (PG E₂) ve Nitrik Oksit salgılanması yoluyla presinaptik nöronlar gibi kontrol eder (16, 17).

Santral sensitizasyona uğramış nöronlar daha önceki uyarıları hatırlar. Santral sensitizasyon ağrı hafızasının gelişimsel kaynağını yansıtabilir (17). DRG ve dorsal

boynuzda sensitivitenin başlamasında yer alan birçok ikinci mesajcı kaskadları mevcuttur. Bunlardan bazıları Protein kinaz A, Protein kinaz C, Nitrik Oksit Sentaz ve Mitojen Aktive Edici Protein Kinaz (MAPK-Mitogen Activated Protein Kinaz)dır (16, 17). MAPK'nın santral sensitizasyonda major rol oynadığı düşünülmektedir (17).

Nöropatik ağrının oluşmasında sempatik sinir sisteminin de önemli bir yeri vardır. Sinir hasarı hatta küçük bir travma dahi sempatik aktivitede bozukluğa neden olabilir (2). Periferel sinir hasarından sonra hasarlı alanda lokal sempatik terminallerin filizlenmesinde artış vardır. Ayrıca DRG'de sempatik terminaller vardır. Buradaki sempatik innervasyon düzeyleri sinir hasarı sonrasında artmıştır (18). Buradaki sempatik filizlenmeler sensitivitede artışa neden olur (17, 18).

A beta lifleri dorsal boynuzda lamina II dışında tüm laminalarda sonlanır. Sinir hasarı sonrasında C lifleri atrofiye olurken A beta lifleri reorganize olarak dorsal boynuz içinde filizlenmeler gösterir ve C lifleri ile temas eder. Bunun sonucunda A beta lifleriyle taşınan ve normalde ağrı nedeniyle olmayan uyarılar da ağrı oluşturabilir (2, 16, 17).

Dorsal boynuz inhibitör nöronlarının eksitotoksik hücre ölümleri nedeniyle dezinhibisyon (inhibisyon kaybı) gelişir. Bu dorsal boynuz nöronlarında periferel sinir harabiyeti sonrası gelişen aşırı duyarlılığın bir diğer mekanizmasıdır (14, 17, 19).

Nöropatik ağrının spinal ve supraspinal mekanizmalar arasında ayrıca hipotalamik bozukluklar, alternatif sekonder çıkıcı yolların aktivasyonu, deafferente santral duyuusal nöronların anormal paterni, deafferente nosiseptif retikülotalamik yolların hiperaktivitesi de sayılabilir (9). Bu değişikliklerin sonucunda ağrı algılama

alanında bir değişiklik meydana gelir, böylece spinal nöron sadece kendi alanında değil, diğer alanlarda da etkili olur (1, 2).

3.2.2. Klinik Özellikler

Nöropatik ağrının oluşumunda ve devamlılığında sözü geçen patofizyolojik değişiklikler nöropatik ağrıyı klinik olarak diğer ağrılardan ayırarak, nöropatik ağrıya özgün çeşitli özellikler kazandırmaktadır. Bu özellikler:

1. Spontan, hoş olmayan duygu (dizestezi) ve keskin, batıcı nitelikte, elektrik çarpması şeklinde ya da yanıcı tarzda ağrı.

2. Hiçbir ağrılı uyaran yokken spontan ağrı vardır. Bu spontan ağrı, sürekli veya intermittan olabilir. Ağrılı alanda duyuusal kayıp ya da duyuusal bozukluk görülür.

3. İlgili dokularda uyarılara karşı değişmiş yanıt hali görülür. Etkilenmiş alanlarda ağrılı olmayan uyarılara ağrı yanıtı (allodini), ağrılı uyarana artmış veya abartılı ağrı yanıtı (hiperaljezi) temporal sumasyon ve hiperpati gözlenebilir. Sempatik sinir sistemi tutulumu olduğunda otonomik disfonksiyona bağlı renk değişikliği, terleme bozukluğu, tırnaklarda dejenerasyon, deri atrofisi gibi değişiklikler ortaya çıkar. Bu değişiklikler yanma, hiperaljezi ve allodiniye eşlik eder. Tüm bu değişikliklerin bulunduğu daha önce refleks sempatik distrofi, kozalji olarak tanımlanan sendromlar günümüzde IASP tarafından Kompleks Rejyonel Ağrı Sendromları I ve II olarak sınıflandırılmaktadır.

Sözü edilen tüm bu otonomik değişikliklerin bulunduğu ağrılar nöropatik ağrı olarak tanımlanmaktadır. Güncel çalışmalar bu sendromların sempatik aktivite artışı ile birlikte (sempatik kaynaklı ağrılar) ya da sempatik aktiviteden bağımsız (sempatik kaynaklı olmayan ağrılar) olduğunu göstermiştir. Vazomotor, sudomotor

aktivite değişikliği gibi klinik olarak otonomik değişiklikler olmasına karşın ağrı her zaman sempatik blokaja yanıt vermemektedir (1, 9, 14, 17).

3.2.3. Tanı

Nöropatik ağrı tanısında ilk basamak; iyi bir anamnez ile ağrının yerini, şiddetini, süresini, niteliğini, arttıran-azaltan faktörleri ve dağılımı hakkında fikir edinmektir. Nöropatik ağrının doğru tanısı doğru tedaviyi sağlar.

Fizik muayenede motor sistem ve duyuşal sistem muayenesi özenli bir şekilde yapılmalıdır. Allodini ve hiperaljezinin muayeneleri özellikle yapılmalıdır.

Laboratuvar incelemelerinde tam kan sayımı, biyokimya değerleri, immünolojik incelemeler, hormon profili, B12 ve diğer B vitamini düzeylerine bakılmalı, elektromiyografi, elektronörografi ve manyetik rezonans görüntüleme tetkikleri yapılmalıdır.

Parasempatik ve sempatik akson reflekslerini değerlendirmek için otonomik testler yararlı olur. Hem etyolojik nedenin ortaya konması hem de sinirde oluşturduğu hasarı belirlemek için histopatolojik inceleme gereklidir.

Ağrının yarattığı duyuşal değişikliklerin yanı sıra, bunun duyuşal kognitif (bilişsel)-davranışsal yansımalarının ve bireyin tedaviye yanıtının değerlendirilmesi amacıyla ağrı değerlendirme skalaları kullanılmaktadır (2, 9, 20).

3.2.4. Tedavi

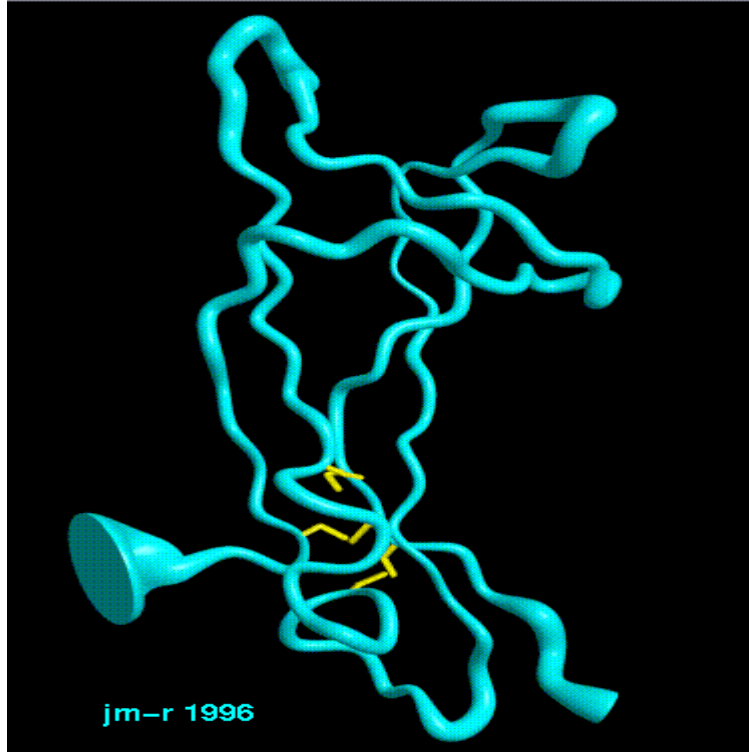
Nöropatik kaynaklı ağrının tedavisi oldukça zordur. Patofizyolojinin daha iyi anlaşılıp yeterli bir tedavi sağlamak için günümüzde çeşitli hayvan modelleri ile çalışmalar yapılmıştır. Bu modeller ile yapılan çalışmalarda yeni tedavi seçenekleri geliştirilmiş olsa da; günümüzde halen tam olarak yeterli analjezi sağlanamamıştır. Nöropatik ağrının tedavisinde semptom ve bulgular ile altta yatan etyolojik

mekanizmalar göz önünde bulundurulmalı, bunun sonucunda da tedavi hastaya göre düzenlenmelidir (1, 20).

Antidepresanlar, antikonvülzanlar, alfa-2-adrenoreseptör agonistleri, kortikosteroidler, antiaritmikler ve opioidler nöropatik ağrı tedavisinde halen yaygın olarak kullanılmakta olan ilaçlardan bazılarıdır (1). Ayrıca kapsaisin, kas gevşeticiler, somatostatin analogları, NMDA reseptör antagonistleri, kalsiyum kanal blokerleri, P maddesi ve nörokinin antagonistleri, nöronal Nitrik Oksit Sentaz inhibitörleri, bradikinin reseptör antagonistleri ve kolesistokinin antagonistlerinin nöropatik ağrının sağaltımında etkili olduğu, çeşitli klinik ve deneysel çalışmalarda ortaya konmuştur. Tedavide kullanılan bu ajanlar direkt olarak ağrı ile ilişkili bozukluğa yönelik olduğu gibi; hastalardaki semptom ve bulgulara yönelik destek tedavisi şeklinde de kullanılabilir (2, 9, 17, 21). Ayrıca TENS (Transkutan Elektriksel Sinir Stimülasyonu) ve sinir blokları gibi girişimsel yöntemler de tedavide kullanılmaktadır (1).

3.3. NGF

Nörotropinler omurgalı sinir sisteminin gelişimi ve idamesi için gerekli olan polipeptid yapılı büyüme faktör ailesidir. Bu ailenin ilk üyesi olan NGF, İtalyan bilim adamı Rita Levi-Montalcini ve arkadaşları tarafından 1952 yılında keşfedilmiştir. NGF'nin keşfinden birkaç dekad sonra benzer yapı ve fonksiyonlara sahip olan BDNF (Beyinden Türetilmiş Nörotropik Faktör) keşfedilmiştir. NGF ve BDNF'yi Nörotropik faktör-3 (NT-3, Neurotrophin Factor-3), Nörotropik faktör-4 (NT-4, Neurotrophin Factor-4), Nörotropik faktör-5 (NT-5, Neurotrophin Factor-5), Nörotropik faktör-6 (NT-6, Neurotrophin Factor-6) ve Nörotropik faktör-7 (NT-7, Neurotrophin Factor-7)'nin keşfi izlemiştir (22).



Şekil 1: NGF X-ray kromotografik görünümü (www.cryst.bbk.ac.uk adresinden alınmıştır) (23).

3.3.1. Yapısı

İnsanda NGF birinci kromozomun kısa kolunda yer almaktadır. Özellikle 7S formunda 130-140 kD moleküler ağırlığında bir kompleks olup alfa, beta ve gamma olmak üzere 3 alt kısımdan meydana gelmiştir (şekil-1). 118 aminoasitlik iki tane beta alt kısımları birbirine disülfid bağı ile bağlı olup NGF'nin biyolojik aktivitesinden sorumludur. Alfa ve gamma alt kısımları, kallikrein protein ailesinin üyesi olup alfa subünitinin rolü bilinmezken; gamma alt kısmının EGF (Epidermal Büyütücü Faktör)'yi bağlayıcı protein ve beta alt kısmının işleyişi ile ilgili rolü bilinmektedir. NGF'nin 2,5S purifiye formu 26 kD molekül ağırlığında nonkovalent bağlı 2 farklı alt kısmın bağlanmasından oluşmuştur. En çok sentezlendiği ve

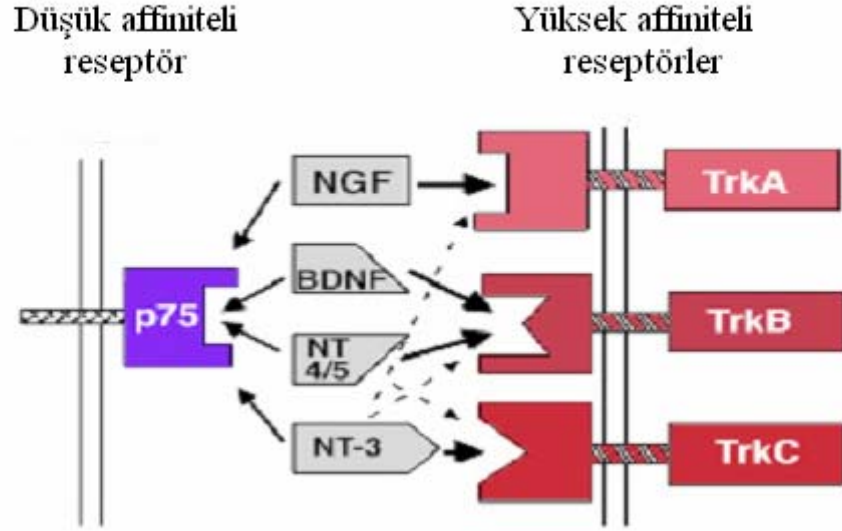
depolandığı yer erkek fare submandibuler bezi olup nedeni araştırmalara rağmen bilinmemektedir (24).

3.3.2. Reseptörleri

Son yıllarda yapılan çalışmalarda nörotropinlerin adlarından daha geniş rollerinin olduğu bilgilerle gösterilmiştir. NGF etkisini $p75^{NTR}$ ve Trk A olmak üzere iki reseptörü aracılığıyla göstermekte olup, bu iki reseptörün sinyalizasyonunun sinerjik, antagonist veya birbirinden bağımsız olabildiği bilinmektedir. Nörotropinler ve reseptörleri arasındaki ilişki Şekil-2'de gösterilmiştir (25).

3.3.2.1. P75 Reseptörü

$p75^{NTR}$ düşük affiniteli NGF reseptörü olup TNF reseptör ailesine aittir. Glikoprotein yapısında olup transmembran ve ekstraselüler alanda yer almaktadır. Pan-nörotropin reseptörü olarak etkimekte, yani NGF dışında BDNF, NT-3 ve NT-4/5 gibi diğer nörotropinleri de bağlamaktadır. $p75^{NTR}$ reseptörü 75 kDa ağırlığında olup 1.7×10^{-9} M konsantrasyondadır. $p75^{NTR}$ reseptörü ilk izole edilen nörotropin reseptörü olmasına rağmen rolü tam olarak aydınlatılamamıştır. P75 mutasyonu oluşturulan çalışmalarda, NGF ve Trk A mutasyonu oluşturulanlara göre daha az ciddi durumlara neden olduğu gösterilmiştir. NF κ B ve c-Jun kinaz transdüksiyon yolaklarını indükleyerek etkisini göstermekte olup Şekil 2'de de gösterildiği gibi uyardığı yolağa göre etkisi değişmektedir. P75 reseptörünün yüksek affiniteli reseptörlerin varlığında onların ko-reseptörü gibi davrandığı gösterilmiştir. NGF'ün indüklediği proapoptotik süreçte mediyatör olarak görev yaptığı düşünölmektedir. Sonuç olarak seramid yapımının arttığı, hücreyi gen transkripsiyonuna veya programlanmış hücre ölümine yönlendirdiği söylenilebilir (25, 26).



Şekil 2. Nörotropin reseptörleri (Gilbert SF, Developmental Biology, seventh edition ve www.devbio.com'dan alınarak uyarlanmıştır)(27).

3.3.2.2. TrkA Reseptörü

Tirozin kinaz proteini reseptörleri olan tirozin kinaz A, B, C (Trk A, B, C) spesifik etkili yüksek affiniteli nörotropin reseptörleridir. Trk reseptörleri transmembran, ekstrasellüler ve intraselüler alanda yer almaktadır. Trk reseptörlerinin sinyal transdüksiyonu için gerekli olan tirozin kinaz aktivitesi sitozolik alanda yer almaktadır. p75 reseptörü şekil-1'de gösterildiği gibi tüm nörotropinleri bağlarken tirozin kinaz reseptör ailesi farklı nörotropinleri farklı affinite ile bağlamaktadır. Trk A, tercihen NGF'yi bağlamakla beraber düşük affinite ile NT-3, NT-4 ve NT-5'i de bağlamaktadır. Trk B, BDNF ve NT-4'ü yüksek affinite ile bağlarken NT-3'ü daha düşük affinite ile bağlamaktadır. Trk C ise sadece NT-3'ü bağlamaktadır (25, 28).

Trk A, NGF için spesifik olup; NGF'nin biyolojik aktivitesinin çoğu Trk A reseptörü aracılığıyla gerçekleşir. Trk A reseptörü birinci kromozomdaki

protoonkogenler tarafından kodlanan 140 kiloDalton ağırlığındaki transmembran proteinidir. NGF'nin Trk A reseptörüne bağlanması, tirozin otoposforilasyonu ile sinyal transdüksiyon kaskadlarından bir kısmını aktifleştirir. Bu kaskadlar içerisinde başlıca MAPK-Ras-Erk yolağı, fosfolipaz Cy1 ve inozitol trifosfat yer almaktadır. Trk A mutasyon çalışmalarında, nöronal popülasyon kaybı ile sonuçlanan sinir sistemi gelişiminde dramatik etkilere neden olduğu gösterilmiştir (25, 28).

3.3.3.Santral Sinir Sisteminde Nörotropinler ve Reseptörleri

Nörotropinler, gelişen sinir sisteminde iletimin kurulmasına yardım eden hedef hücreler tarafından üretilen yapısal ve fonksiyonel olarak benzer proteinlerin bir grubudur. Beyinde en yüksek düzeylerde majör kolinerjik yolların bulunduğu hipokampus ve serebral korteks gibi bölgelerde bulunur. Neonatal ratlarda NGF'nin intraserebroventriküler olarak uygulanması halinde korteks ve hipokampusta kolinasetiltransferaz aktivitesini arttırdığı ve anti-NGF'nin intraserebroventriküler olarak uygulanmasının ise asetilkolintransferaz aktivitesini azalttığı gösterilmiştir. NGF sinir hücrelerinde büyüme, farklılaşma, canlılığını sürdürme, rejenerasyon, nörotransmitter fonksiyonu ve nöronların nörotoksin ve lezyonlara direncinde önemli bir role sahiptir (28, 29). Normal koşullarda nöronlar NGF sentezinde majör rol oynarken hasara uğramış beyinde glial hücrelerde NGF üretebilir. Glutamat ve asetilkolinle ekspresyonları artarken, GABA ile ekspresyonlarının azaldığı gösterilmiştir. Kan, sinir sistemi ve beyin omurilik sıvısındaki (BOS) NGF düzeyinin yaş ile ilgili olarak azaldığı gösterilmiştir (30). Fetal hayat ve erken postnatal dönemlerde nöronlar NGF bağımlı iken daha sonraki dönemlerde NGF duyarlı hale gelmektedir. NGF düzeyleri, hipoksi, iskemi, injuri, yaşlılığa bağlı serebral atrofi ve yükselmiş intrakranial basınç gibi patolojik durumlarda, kan, doku ve BOS'da yüksek olarak saptanmıştır (28). Serebral hasar sonrası NGF düzeyinde yükselme,

nöronal iyileşme için esastır. Yapılan birçok çalışma ile nörotropik faktörlerin sellüler kalsiyum hemostazisini kontrol ettiğini, serebral kan akımını düzenlediğini ve iskeminin etkilerini iyileştirdiğini, antioksidan enzimleri arttırarak; serbest radikallerin oluşumunun baskıladığı gösterilmiş olmasına rağmen nöroprotektif rolün altında yatan mekanizma halen belirsizdir. Nörotrofik faktörler nörodejeneratif hastalıkların in vivo ve in vitro modellerinde kullanılmıştır. Birçok nörotropik faktör, primat modellerde araştırma aşamasında kalmışken, bazıları da insanlarda nörodejeneratif hastalıkların tedavisinde denenmiştir. Ancak bu zamana kadar elde edilen sonuçlar teknik problemler, yan etkiler ve yetersiz etkinlikten dolayı tatminkar olmamıştır. NGF yukarıda bahsedilen yararlı etkilerinden dolayı batı dünyasında, nörodejeneratif hastalıkların özellikle de Alzheimer hastalığının tedavisinde yeni potansiyel tedavi aracı olup olmayacağı tartışılmaktadır (31). Yine NGF'nin özellikle öğrenme olmak üzere kognitif fonksiyonlar üzerinde etkili olduğu gösterilmiştir (32).

3.3.4. Periferik Sinir Sisteminde Nörotropinler ve Reseptörleri

Periferik sinir sisteminde NGF'nin ana rolü hasarlanmış nöronlarda akson jenerasyonunu sağlanmasıyla birlikte P maddesi ve CGRP gibi nöropeptidlerin sentez ve salınımını arttırmaktır. NGF veya Trk A reseptör geninde mutasyon oluşturulan çalışmalarda doğumda primer duyuşal nöronların yaklaşık %70'inin kaybolduğu ve yine sempatik gangliyonların nöronlarını kaybettiği gösterilmiştir. Dorsal kök gangliyonlarının termosensitif ve ağrı sensitif duyuşal nöronlarının yaygın kaybı ile; mekanik ve termal hiperaljezi, duyuşal defisitli periferik nöropati, periferik ağrı ve inflamatuvar cevabı regüle etmede rolü olduğu ileri sürölmektedir (33, 34).

3.3.5. Nöropati, Nöropatik Ağrı ve NGF

Nöropatik ağrı pek çok nöropatide görülebilir. En sık nedeni diyabetik nöropatidir. Pek çok nöropatiye enfeksiyonlar, ilaç tedavileri ve periferik sinirin travmatik hasarı eşlik eder. Bu nöropatik ağrı, şiddetli, persistan ve mevcut tedavilere dirençlidir.

Günümüzde kullanılan pek çok sinir hasarı modeli vardır. Genellikle major bir periferik sinirin tüm aksonlarını ilgilendiren, bazen de tamamını ilgilendirmeyen sinir hasarları oluşturulur. Genellikle siyatik sinir üzerinde çalışılır. Bu modellerde sinir içindeki duyuşal lifleri dejenerasyona uğrar ve normalde innerve ettikleri periferik hedeflerle olan ilişkisi kaybolur. Bununla birlikte aynı sinir içindeki aksonlar intakt kalır ve sinirin dejenere olduğu çevreye doğru uzanır. Hasar gören aksonların hedef dokularla bağlantısı kalmadığından bu denerve alana uzanan sağlam aksonlardan nörotropik faktörler salınır. Bu faktörler ile nöroprotektif etki oluşturulmaya çalışılır. Bu süreç nedeniyle deneysel ve hatta bazı klinik araştırmalar nöropati tedavisinde NGF kullanımını ön plana çıkarmıştır. Pek çok çalışmada NGF'nin küçük çaplı nosiseptif sensoryal nöronlar üzerine nöroprotektif etkisinin olduğu gösterilmiştir. Hasara uğrayan sinirde sağlam kalan sinir liflerinde NGF üretimi ciddi olarak artarken, bir yandan da hasarlanan liflerdeki schwann hücreleri de büyük miktarda NGF sentezlemeye başlar. Anti-NGF tedavisi ile bu tür modellerde bazı başarılar elde edilmiştir. NGF'nin nöroprotektif etkileri ile birlikte algojenik etkisi de vardır. NGF'nin bir anti-NGF ile kombine edilmesi nöropatik ağrıya karşı bir etkinlik sağlayabilir (35-37).

3.4. HAYVANLARDA AĞRI MODELLERİ

Hayvan çalışmalarında amaç ne olursa olsun bir hayvan modeline ihtiyaç vardır ve bu model o araştırma için ne kadar uygun olursa elde edilen sonuçlar da o oranda doğru olacaktır (38)

Akut ve kronik ağrı ile ilgili araştırmalarda belirli bir duyarlılık için doğru uyarının belli bir oranda uygulanması koşulu vardır. Uyarının derecesinin ölçülebilirliği, tekrarlanabilirliği ve noninvaziv olması önemlidir (38). Ağrı deneyleri birçok açıdan karakterize edilebilir (Tablo 4).

Tablo 4: Ağrı Deneylerinin Karakteristikleri

Uyarının etyolojisi	Nosiseptif, kimyasal/inflamatuvar, nöropatik
Uyarının türü	Spontan (kimyasal)
Uyarının yoğunluğu	Uyarılmış (termal, mekanik)
Aktive primer afferentler	A-delta, C
Lokalizasyon	Kutanöz, subkutan, visseral, sinir sistemi
Süre	Akut, subakut, tonik, kronik
Yanıt tipi	Eşik, eşik üstü
Yanıt karakteristiği	Refleks (fleksiyon/ekstansiyon, doğrulma) Organize (vokalizasyon, kaçma)
Etkinin düzeyi	Spinal, supraspinal

Ağrı çalışmalarında temel olarak elektriksel, termal, mekanik veya kimyasal uyarı kullanılır. Termal ve elektriksel uyarı söz konusu kriterlere en fazla uygun olanlardır (38).

Elektriksel uyarın: Kullanımının en büyük avantajı kantitatif, tekrarlanabilir ve noninvaziv olmasıdır. Doğal tipte bir uyarın olmaması dezavantajıdır. Yoğun elektriksel uyarı bütün periferik sinirlerde uyarıya neden olabilir (38).

Termal uyarın: Kutanöz reseptörlerin uyarılması için seçici bir yöntemdir. Termosensitif ve nosiseptif lifler de dahil olmak üzere periferik aksonu stimüle eder. Kutanöz ısınma hızı yavaş olduğundan periferik ve santral nöronların aktivasyonu asenkron dur (38).

Mekanik uyarın: Yoğunluk ve süreye bağılı olarak refleks motor davranış ve/veya vokalizasyonla sonlanır. Uyarın alınan cevapla kesilir. En sık kullanılanı von Frey'dir. Hem nosiseptörleri hem de düşük eşikli mekanoreseptörleri aktive eder. Dolayısıyla uyarı spesifik değildir (38).

Kimyasal uyarın: Kimyasal ajanların uygulandığı, oldukça yavaş bir uyarın türüdür. Progresiftir, oldukça uzun sürer ve uygulandıktan sonra geri dönüşümsüzdür (38).

Termal testler arasında tail immersiyon testi, hot plate testi ve soğuk uyarın testi bulunmaktadır. Mekanik uyarının kullanıldığı testler ise ayak çekme ve kuyruk sıkıştırma testidir. Kimyasal test olarak karın germe (Writhing) testi ve formalin testi kullanılmaktadır (38).

3.4.1. Termal Testler

Tail flick testinde hayvan kuyruğunda belirli noktaya lamba aracılığı ile ısı uygulanmaktadır. Hayvan ağrıyı hissettiği an kuyruğunu çeker. Uygulamanın başladığı andan kuyruğun ısı uygulanan noktadan çekilmesine kadar olan süre tespit edilir. Bu test spinal nosiseptif refleksin değerlendirilmesinde kullanılır (38).

Tail immersiyon testinde ise hayvanın kuyruğu sabit ısıda tutulan suya batırılır. Kuyruğun ve bazen tüm bedenin çekilmesi ile sonlanır. Reaksiyon süresi hayvanın ağrı eşiğini belirler (38).

Hot plate testi ilk olarak Woolfe ve MacDonald tarafından 1944'te tanımlanmış olmasına rağmen en çok 1953'te Eddy ve Leimbach tarafından tanımlanan modifiye formu kullanılmaktadır. Temel olarak 50-56°C'ye ısıtılmış bir yüzeyden oluşur. Hayvanın ısıtılan yüzey üzerinde belli bölge sınırında kalması için hareket kabiliyetini sınırlamayacak büyüklükte cam silindirler kullanılır (Şekil 6). Yüzeye deneğin bırakılmasından hayvanın arka ayağını çekmesine kadar geçen süre tespit edilir. Davranış sadece arka ayağın çekilmesi olabileceği gibi ayak çekme ve yalama, tekmeleme, sallama, dans etme veya sıçrama şeklinde olabilir. Yöntemin en büyük dezavantajı reaksiyon süresinin çok fazla bireysel değişkenlik göstermesidir. Bu testte ayak çekme refleksi spinaldir, fakat modülasyonu supraspinaldir. Dolayısıyla testin sadece supraspinal düzeyde ağrı değerlendirilmesi için kullanıldığını kabul etmek doğru olmayacaktır (38).

Soğuk uyaran testi akut ağrı deneylerinde nadiren kullanılır. Kronik ağrı/nöropatilerde kullanımı yaygındır. Bu test için soğuk platform düzeneği kurulabilir. Soğuk ağrı eşiğinin değerlendirilmesi için buzdolabında $+5\pm 0.5$ °C'ye kadar soğutulmuş buz kalıpları kullanılır. Bu kalıplar ile hazırlanan soğuk zemin üzerine yerleştirilen hayvanın ısı uyarısına vermiş olduğu cevap süresi ölçülerek ağrı eşiğinin tespiti sağlanır (Şekil 7). Çalışmaya alınan her sıçanın ağrı eşiği ölçümü yapıldıktan sonra diğer sıçan için yeni bir buz kalıbı kullanılır. Kurulan bu düzeneğin yanları plastik saydam bir bariyerle hayvanların dışarı çıkmaları engellenecek şekilde kapatılır. Kalıplar üzerine sıçanlar bırakılarak test uygulanır. Sıçanların ortama bırakıldıkları andan itibaren, ekstremitelerini hızla çekmeleri veya yalamalarına

kadar geçen süre saniye cinsinden kronometre kullanılarak belirlenir. Bu testin uygulanması esnasında da ortamın sessizliğine büyük önem verilir ve hayvan 100 saniye içerisinde cevap vermediği takdirde doku hasarını önlemek amacıyla bu zemin üzerinden alınır ve çalışmaya dahil edilmez (38).

3.4.2. Mekanik Testler

Temelde mekanik uyarın yardımıyla ağrı eşiğinin belirlenmesinde kullanılır. Mekanik ağrı eşiği değerleri Randall-Selitto metodu ile Dinamik Plantar Esteziyometre kullanılarak ölçülür (38). Dinamik plantar esteziyometre cihazı temel olarak dört parçadan oluşmaktadır. Bunlar: Taşınabilir dokunmaya duyarlı ünite, metal ağ iskelet, içine denek konulan iki kompartmanlı kafes ve elektronik üniteden ibarettir. Dokunmaya duyarlı stimülasyon ünitesi içinde ayna, uyarı başlatma düğmesi ve mekanik stimulus sağlayan hareketli filament bulunmaktadır. Düzenek kurulurken metal ağ iskelet üzerine kafes yerleştirilir. Metal ağ altına ise taşınabilir dokunmaya duyarlı stimülasyon ünitesi konulur. Bu düzeneğin dışına dijital ekranı görülebilecek şekilde elektronik ünite yerleştirilir. Mekanik ağrı eşiği ölçümü sırasında denekler iki odalı kafeslere yerleştirilir. Stimulus ünitesindeki ayna ile sıçanın uygun arka pençesi gözlenir. Hareketli filamentin ayarlanması sonrası uyarı başlatma düğmesine basılır. Bu uyarı ile sıçanın uygun arka pençesine hareketli filament dokunur ve 50 grama kadar kuvveti 20 saniye içine yayarak hasarlı arka pençeye uygular. Sıçanın arka bacağını geri çekmesi pozitif cevap olarak kabul edilir. Dijital ekrandaki değer gram biriminde mekaniksel ağrı eşiği olarak kaydedilir. Ardı ardına üç ölçüm yapılır ve ortalamaları alınır. Sıçanın hareketi sonucu oluşan değerler şüpheli olarak kabul edilir ve ölçüm tekrarlanır (Şekil 5).

3.4.3. Kimyasal Testler

Writhing testi, hayvanlarda kimyasal uyarıyı değerlendirmede kullanılır. En çok fenilkinon veya asetik asit (%6-%9) kullanılır. Enjekte edilen maddeye karşı doğal olarak kıvrınma refleksi gelişir. Hayvanlarda gerginlik, uzama ya da kıvrınmalarının sayısı asetik asit enjeksiyonundan 5 dakika sonra başlayan, 10 dakikalık periyod boyunca sayılır (38).

Formalin testi, en çok kullanılan kimyasal testtir. % 37'lik formalin solüsyonu subkutan olarak arka ayağın dorsal veya ventral yüzeyine enjekte edilir. Bunu izleyen temel davranış hayvanın ayağını yalaması veya ısırmasıdır. Erken formalin yanıtı enjeksiyondan hemen sonra başlar ve 5-10 dakika sürer. Geç faz ise enjeksiyondan 15 dakika sonra başlar ve 1 saat sürer. Erken fazda nosiseptörlerin kimyasalla direkt uyarılması söz konusudur, geç faza inflamasyon da eşlik eder. İki faz arasında kalan süre ise spinal ve supraspinal düzeyde aktif inhibisyona bağlı olarak gerçekleştiği kabul edilen fazdır (38).

3.5. HAYVANLARDA NÖROPATİK AĞRI MODELLERİ

Hayvanlarda geliştirilen ilk ağrılı nöropati modeli, 1979'da Wall ve arkadaşları tarafından bildirilmiştir. Periferik veya santral sinir sistemi hasarını takiben gelişen nörolojik disfonksiyon mekanizmalarının kavranmasında yardımcıdır. Bu araştırmalarda elde edilen bilgiler nöropatik ağrı kontrolünde yeni tedavi modalitelerinin geliştirilmesini sağlar. Bu alanda geliştirilen bazı modeller nöropatik ağrıda farklı ilaçların davranışsal etkilerinin ortaya konmasını da sağlar (38).

Hayvan araştırmalarında en sık kullanılan periferik nöropatik ağrı modeli Bernet ve Xie tarafından tarif edilen kronik sıkıştırma hasarudur (Chronic Constriction Injury-CCI). Bu modelde sinir hasarı, sıçanların siyatik siniri

çevresinde, siyatik sinir trifurkasyonunun proksimalinde gevşek düğümler atılarak konstriktif ligatür sağlanması yoluyla oluşturulur. Deneklere anestezi uygulanması sonrası steril şartlarda, sol uylukları ortasına dorsal longitudinal 2 cm'lik bir deri insizyonu yapılır. Sol kalça ekleminde hafifçe kaudal ve ventral bir seperasyon ile kas grupları görülür. Kas gruplarının ayrımı için 10 mm insizyon yapılır. Kas gruplarının seperasyonu künt diseksiyon ile derinleştirilir. Femurun uzunluğuna paralel ilerleyen kommon siyatik sinir ortaya çıkarılır (Şekil 3). Siyatik sinir, siyatik trifurkasyonun proksimalinde dikkatli bir künt diseksiyon ile altındaki dokulardan temizlenir. Aralarında yaklaşık 1 mm olan dört adet düğüm 4/0 krome katgüt kullanılarak sinir etrafına bağlanır. Düğümlerin sinir kılıfının kan akımını yavaşlatacak ama, tamamıyla boğmayacak şekilde olması için sinir kılıfının üzerine sinir ile düğüm arasına yaklaşık 1.2 mm kalınlığında daha önce yerleştirilmiş ince metal çekilerek çıkarılır. Kas tabakası 4/0 krome katgüt ile ve cilt 2/0 ipek ile dikilerek kapatılır (Şekil 4). CCI modeli hasarın distalindeki miyelinli liflerde ve hasarlı sahanın proksimalindeki az kullanılan sinir liflerinde dejenerasyona yol açar. Uygulama sonucunda ağrı duyusu belirtileri hasarı takiben 2-7 gün içinde gözlenmeye başlar, 10-14 gün içerisinde en yüksek seviyeye ulaşır ve yaklaşık iki ay civarında ortadan kaybolur. CCI'lı sıçanlar, etkilenen arka pençeyi sallama ve sık yalama gibi spontan ağrıyı işaret eden davranışlar, beraberinde cinsel istekte azalma ve kilo kaybı gibi sistemik belirtiler gösterirler (38).

Isıya ve mekanik uyarana karşı hiperaljezi, CCI modelinde noksiyöz kimyasal stimülasyon kadar belirgin bir bulgu olarak ortaya çıkar. CCI modelinin patofizyolojisinde, periferik ve santral sinir sisteminin beraberce rol aldığı bildirilmiştir (38).

Parsiyel siyatik sinir ligasyon (PSNL) modeli CCI modifikasyonu olarak Seltzer ve Shir tarafından tanımlanmıştır. Girişim için sıçanlarda siyatik sinir dikkatlice ortaya çıkarılarak çevre dokulardan ayrılır. Uygulamada kullanılan 8/0 veya daha ince dikiş materyali siyatik sinirin dorsal yüzünden sinir kalınlığının üçte biri veya yarısını alacak şekilde geçirildikten sonra gevşekçe bağlanır. Böylece sinirin parsiyel ligasyonu sağlanır. Bu model genellikle ototomi davranışı içermeyen spontan ağrı bulguları oluşmasını sağlar (38).

Kim ve Chung tarafından geliştirilen spinal sinir ligasyon (SNL) modelinde sıçanların arka pençesinin tek taraflı deafferentasyonu oluşturulur. Bu modelde, tek taraflı olarak lumbar spinal sinirlerin bir veya iki tanesinin (L5 veya L5-6), dorsal spinal kökten çıktığı bölümün distalinde sıkıca konstriksiyonu sağlanır. Bu metod kontrateral tarafta sempatektomi ile ortadan kaldırılabilen belirgin hiperestezi gelişimine neden olur (38).

3.6. Nöropatik Ağrı Modellerinde Davranışlar

Çeşitli nöropatik ağrı modellerinde farklı davranış anormallikleri izlenir. Sık yapılan nöropatik ağrı modellerinde davranışsal gözlemlerin farklılıkları Tablo 5’te özetlenmiştir.

Tablo 5. Nöropatik Ağrı Modellerinde Davranış Patolojileri

Ağrı Modeli	Ototomi	MH	SıH	MA	SoA	Taraf
CCI	+	+	+	+	+	unilateral
PSNL	-	+	+	+	-	bilateral
SNL	-	?	+	+	+	bilateral

MH:Mekanik hiperaljezi; SıH: Sıcak hiperaljezi; MA:Mekanik allodini; SoA:Soğuk allodini

Nöropatik ağrı modelinde izlenen en özel davranış modellerinden birisi ototomidir. Total siyatik sinir denervasyonunda denerve alanın denek tarafından çiğnenerek önce tırnağın ve parmağın daha sonra ayağın kopartılmasına kadar ilerleyen bir davranış patolojisidir (38). Çeşitli araştırmalarda bu davranış bozukluğu, deafferente ekstremitte uzantısının vücuda yabancı bir madde olarak algılanıp kopartılmak istenmesi şeklinde bir yanıt olabileceği ileri sürülmüştür. Günümüzde birçok araştırmacı, ototomiyi spontan nöropatik ağrının bir yanıtı olarak kabul etmektedir (38).

4. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamız, Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi etik kurul onayı (28.07.2005/649 karar sayısı) alındıktan sonra, Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Araştırma Merkezi (FÜTDAM) Laboratuvarında gerçekleştirildi.

4.1. DENEKLER

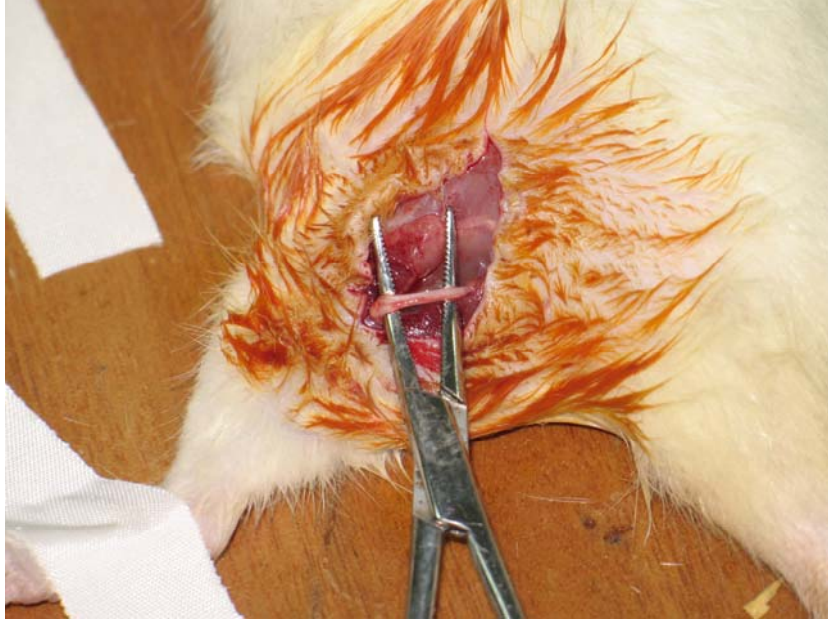
Araştırmamıza FÜTDAM'dan temin edilen ağırlıkları 200-250 gram arasında değişen Wistar-albino cinsi 24 erkek sıçan dahil edildi. Denekler 12 saat gün ışığı alan ve havalanma düzeneği bulunan odada (22 ± 2 °C, %70-75 nem) tutuldu. Deneklerin bulunduğu kafeslerin zemini olası ağırlı mekanik stimülasyonları minimize etmek amacıyla yumuşak tutuldu. Besin kaynağı olarak standart sıçan yemi ve çeşme suyu kullanıldı. Deney öncesi tüm sıçanlara bir hafta süreyle mekanik ve termal testler uygulanarak, bütün hayvanların deney şartlarına alışmaları sağlandı.

Çalışmada deneklerin rastgele seçildiği dört deney grubu oluşturuldu. Her grupta 6 denek ile çalışıldı. Gruplar Kontrol Grubu, SF Grubu, NGF Grubu ve Anti-NGF Grubu olarak adlandırıldı. Deney öncesi tüm grupların mekanik ve termal bazal ağrı eşikleri ölçüldü. Bu işlem sonrası Kontrol grubuna herhangi bir cerrahi işlem uygulanmazken diğer gruplara CCI modeli oluşturulan cerrahi işlem uygulandı.

4.2. CERRAHİ İŞLEM

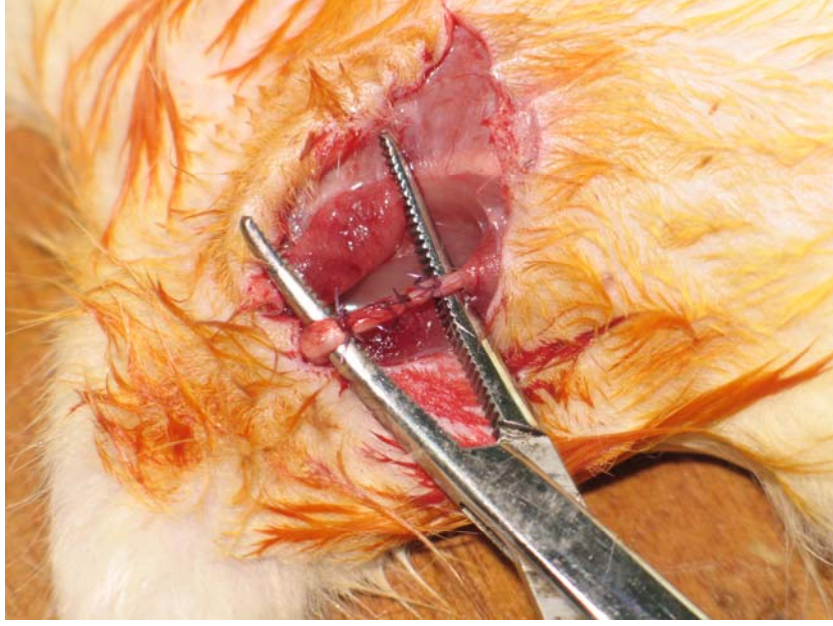
Nöropatik ağrı modeli Bernet ve Xie tarafından tarif edilen nöropati modeli olan CCI (Chronic Constriction Injury-Kronik Sıkıştırma Hasarı) modelinin modifiye şekli uygulanarak yapıldı. Deneklere anestezi Ketamin-HCl (Ketalar®, Eczacıbaşı, İstanbul) 60 mg/kg ve Xylozine (Rompun®, Bayer, İstanbul) 5 mg/kg intramusküler uygulanarak sağlandı. Steril şartlarda, sıçanların sol uyluk ortasına dorsal longitudinal 2 cm'lik bir deri insizyonu yapıldı. Sol kalça eklemine hafifçe kaudal

ve ventral bir seperasyon ile kas grupları görüldü. Kas gruplarının ayrımı için 10 mm insizyon yapıldı. Kas gruplarının seperasyonu künt diseksiyon ile derinleştirildi. Femurun uzunluğuna paralel ilerleyen kommon siyatik sinir ortaya çıkarıldı (Şekil 3).



Şekil 3. Denek hayvanının sol kommon siyatik sinirinin ortaya çıkarılışı

Siyatik sinir, siyatik trifurkasyonun proksimalinde dikkatli bir künt diseksiyon ile altındaki dokulardan temizlendi. Aralarında yaklaşık 1 mm olan dört adet düğüm 4/0 krome katgüt (Mediplat Medikal San. Ve Tic. A.Ş. İstanbul) kullanılarak sinir etrafına bağlandı. Düğümlerin sinir kılıfının kan akımını yavaşlatacak ama, tamamıyla boğmayacak şekilde olması için sinir kılıfının üzerine sinir ile düğüm arasına yaklaşık 1.2 mm kalınlığında daha önce yerleştirilmiş ince metal çekilerek çıkarıldı. Kas tabakası 4/0 krome katgüt ile ve cilt 2/0 ipek ile dikilerek kapatıldı (Şekil 4).



Şekil 4. Siyatik sinirin dört ayrı düğüm ile ligatüre edilmesi

4.3. OPERE DENEKLERDE NÖROPATİ OLUŞUMU

Cerrahi işlemi izleyen günlerde düzenli olarak ratların davranışları değerlendirilip nöropati olup oluşmadığı gözlemlendi. Cerrahi işlem uygulanan SF, NGF ve Anti-NGF gruplarında deneyin 21. günü nöropatik hasar oluşumu saptandı.

4.4. İLAÇLAR VE ENJEKSİYON

İlaç uygulamaları deneyin 21. gününden itibaren 28 gün boyunca yapıldı. İlaçlar her gün 06.00-07.00 saatleri arasında sıçanların hasarlı sol bacağına lokal yolla (intradermal) uygulandı. Deneyde ilaç olarak NGF (Nerve Growth Factor-Beta from rat, Sigma, St. Louis, MO, ABD) ve Anti-NGF (Monoklonal Anti-NGF –Beta from Mouse, Sigma, St. Louis, MO, ABD) kullanıldı. Bu ajanlar deneklere uygulanırken %0.9'luk NaCl solüsyonu ile sulandırıldı. İlaçlar tüm deneklere 30 G enjektör ile 0.1 mililitre olarak uygulandı.

Deneyde gruplara göre ilaç uygulamaları şu şekilde yapıldı:

Kontrol Grubu (n=6): Bu gruba herhangi bir ilaç uygulanmadı.

SF Grubu (n=6): Lokal serum fizyolojik solüsyonu uygulandı.

NGF Grubu (n=6): Lokal NGF solüsyonu (0.75 nano gram /gram =150 nanogram) uygulandı.

Anti-NGF Grubu (n=6): Lokal anti-NGF solüsyonu (90 pikogram/gram =18 nanogram) uygulandı.

Deney 48 günde tamamlandı.

4.5. İLAÇ ETKİLERİNİN ÖLÇÜMÜ

4.5.1. Mekaniksel Ağrı Eşiği Ölçümü

Deneye başlamadan önce deneklerin mekanik ağrı eşikleri dinamik plantar esteziyometre (Dynamic Plantar Aesthesiometer; Ugo Basile, Via G. Borghi 43, 21025 Comerio–VA, İTALYA) kullanılarak ölçüldü. Mekanik ağrı eşiği ölçümleri deney boyunca her gün 17.00-19.00 saatleri arasında yapıldı. Dinamik Plantar Esteziyometre cihazındaki hareketli filamentin sıçanın hasarlı ayağına ayarlanması sonrası uyarı başlatma düğmesine basıldı. Bu uyarı ile sıçanın uygun arka pençesine hareketli filament dokundu ve 50 grama kadar kuvveti 20 saniye içine yayarak hasarlı arka pençeye uyguladı. Sıçanın arka bacağını geri çekmesi pozitif cevap olarak kabul edildi. Dijital ekrandaki değer gram biriminde mekaniksel ağrı eşiği olarak kaydedildi. Ardı ardına üç ölçüm yapıldı ve ortalamaları alındı. Sıçanın hareketi sonucu oluşan değerler şüpheli olarak kabul edildi ve ölçüm tekrarlandı (Şekil 5).



Şekil 5. Deneklerin mekanik ağrı eşliğinin değerlendirilmesi

4.5.2. Termal Ağrı Eşliği Ölçümü

Deneklerin termal ağrı eşikleri deney boyunca her gün 17.00-19.00 saatleri arasında ölçüldü. Sıcak ağrı eşliğinin değerlendirilmesi için hot plate testi kullanıldı. Soğuk ağrı eşliğinin değerlendirilmesi için ise uygun ısıda hazırlanan buz kalıpları kullanıldı.

4.5.2.1. Sıcak Ağrı Eşliği Ölçümü (Hot Plate Testi)

Sıcak bir zemin üzerine yerleştirilen hayvanın ısı uyarısına vermiş olduğu cevap süresi ölçülerek ağrı eşliğinin tespitine yönelik bir termal akut ağrı modelidir. Çalışmada sıçanlar için uygun büyüklükteki hot plate cihazı (Harvard, Edenbridge, İngiltere) kullanıldı. $50\pm 0.5^{\circ}\text{C}$ 'ye ayarlanmış ve yanları plastik saydam bir bariyerle hayvanların dışarı çıkmaları engellenecek şekilde kapatılmış tabla bölümüne sıçanlar bırakılarak test uygulandı (Şekil 6). Sıçanların tablaya bırakıldıkları andan itibaren, ekstremitelerini hızla çekmeleri veya yalamalarına kadar geçen süre saniye cinsinden kronometre kullanılarak belirlendi. Bu testin uygulanması esnasında ortamın sessizliğine büyük önem verildi ve hayvan 60 saniye içerisinde cevap vermediği

takdirde doku hasarını önlemek amacıyla bu sıcak tabla üzerinden alındı ve çalışmaya dahil edilmedi.



Şekil 6. Deneklerin sıcak ağrı eşiğinin değerlendirilmesi

4.5.2.2. Soğuk Ağrı Eşiği Ölçümü

Soğuk ağrı eşiğinin değerlendirilmesi için buzdolabında $+5\pm 0.5^{\circ}\text{C}$ 'ye kadar soğutulmuş buz kalıpları kullanıldı. Bu kalıplar ile hazırlanan soğuk zemin üzerine yerleştirilen hayvanın ısı uyarısına vermiş olduğu cevap süresi ölçülerek ağrı eşiğinin tespiti sağlandı (Şekil 7). Çalışmaya alınan her sıçanın ağrı eşiği ölçümü yapıldıktan sonra diğer sıçan için yeni bir buz kalıbı kullanıldı. Kurulan bu düzeneğin yanları plastik saydam bir bariyerle hayvanların dışarı çıkmaları engellenecek şekilde kapatıldı. Kalıplar üzerine sıçanlar bırakılarak test uygulandı. Sıçanların ortama bırakıldıkları andan itibaren, ekstremitelerini hızla çekmeleri veya yalamalarına kadar geçen süre saniye cinsinden kronometre kullanılarak belirlendi. Bu testin uygulanması esnasında da ortamın sessizliğine büyük önem verildi ve

hayvan 100 saniye içerisinde cevap vermediği takdirde doku hasarını önlemek amacıyla bu zemin üzerinden alındı ve çalışmaya dahil edilmedi.



Şekil 7. Deneklerin soğuk ağrı eşiklerinin değerlendirilmesi

4.6. İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRMELER

İstatistik metodları SPSS for Windows (ver. 12.0) paket programı kullanılarak yapıldı. Denek hayvanlarında nöropati gelişimi paired t testi kullanılarak test edildi. 28 gün boyunca uygulanan NGF ve anti-NGF 'nin etkilerinin istatistiksel sonucu One-Way ANOVA testini takiben yapılan Tukey's testi (HSD) ile değerlendirildi. Tüm istatistiksel karşılaştırmalarda $p < 0,05$ istatistiksel olarak anlamlı olarak kabul edildi.

5. BULGULAR

CCI öncesi deneklerin mekanik, sıcak ve soğuk ağrı eşikleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmedi ($p>0,05$). Cerrahi işlem uygulanan SF, NGF ve anti-NGF gruplarındaki tüm deneklerde; işlemden 21 gün sonra nöropatik hasar saptandı. Deneyin 21. gününde bu gruplardaki sıçanların hasarlı pençelerindeki mekanik, sıcak ve soğuk ağrı eşikleri, hasar öncesi ölçülen bazal değerlere göre istatistiksel olarak anlamlı derecede azalma göstermiştir ($p<0,05$). CCI uygulanmayan Kontrol grubundaki deneklerin ağrı eşiği değerlerinde, bazal değerlere göre istatistiksel olarak anlamlı bir değişim gözlenmemiştir ($p>0,05$). Deneklerin CCI öncesi ve nöropatinin saptandığı 21. gündeki mekanik ve termal uyarılara karşı ağrı eşiklerinin grup ortalamaları \pm standart deviasyon (ort. \pm SD) değerleri Tablo 6’da sunulmuştur.

Tablo 6: Gruplara Göre Nöropatinin Belirlenmesi

	Kontrol	SF	NGF	Anti-NGF
	Grubu	Grubu	Grubu	Grubu
Mekanik Ağrı Eşiği				
Bazal değer (gram)	33,50 \pm 1,18	33,83 \pm 0,98	33,91 \pm 0,66	34,58 \pm 1,06
21. gün (gram)	33,66 \pm 0,60	21,25 \pm 1,03*	21,08 \pm 0,91*	20,50 \pm 0,54*
Sıcak Ağrı Eşiği				
Bazal değer (saniye)	9,05 \pm 0,30	8,96 \pm 0,46	9,06 \pm 0,40	9,06 \pm 0,33
21. gün (saniye)	9,08 \pm 0,20	5,05 \pm 0,32*	4,83 \pm 0,44*	5,03 \pm 0,32*
Soğuk Ağrı Eşiği				
Bazal değer (saniye)	15,10 \pm 0,05	15,08 \pm 0,26	14,95 \pm 0,18	15,05 \pm 0,18
21. gün (saniye)	15,06 \pm 0,10	9,63 \pm 0,30*	9,58 \pm 0,24*	9,65 \pm 0,23*

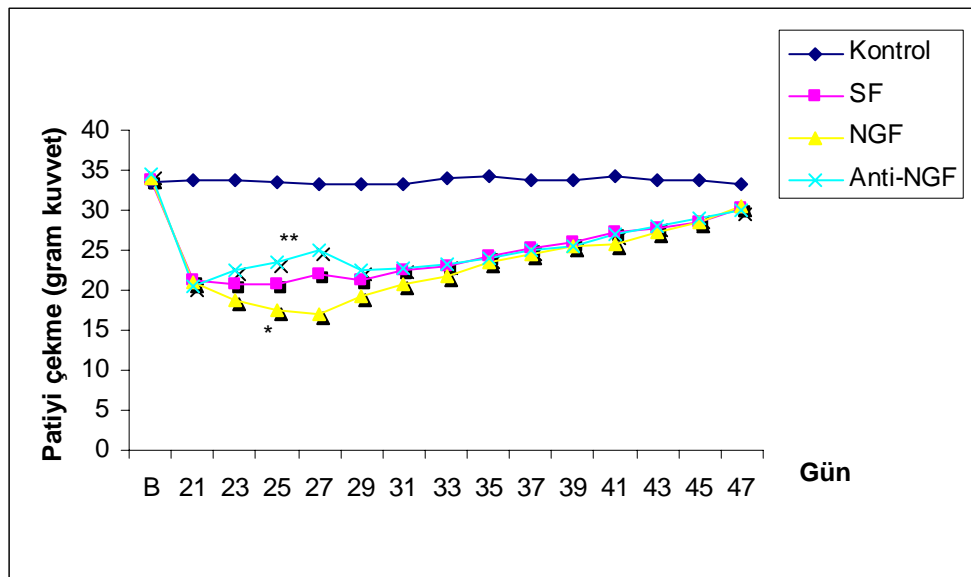
* $p<0,05$ (21. gündeki ölçülen değerler, bazal değerlere göre anlamlı)

Nöropati Modelinde NGF ve Anti-NGF'nin Etkisi

Deneyin 21. gününde SF, NGF ve Anti-NGF gruplarındaki deneklerin mekanik ve termal ağrı eşiklerinde ; Kontrol grubuna göre anlamlı derecede azalma saptanmıştır ($p<0,05$).

Mekanik ağrı eşiği değerlendirildiğinde; NGF grubunda postoperatif 24-35. günler arası, SF grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede mekanik hiperaljezi saptandı (Şekil 8, $p<0,05$).

Mekanik hiperaljezinin, Anti-NGF grubunda (SF grubuna göre) postoperatif 25-30. günler arasında istatistiksel olarak anlamlı derecede engellendiği saptandı (Şekil 8, $p<0,05$).



Şekil 8. Grupların mekanik uyarana karşı davranışlarının ortalama değerleri

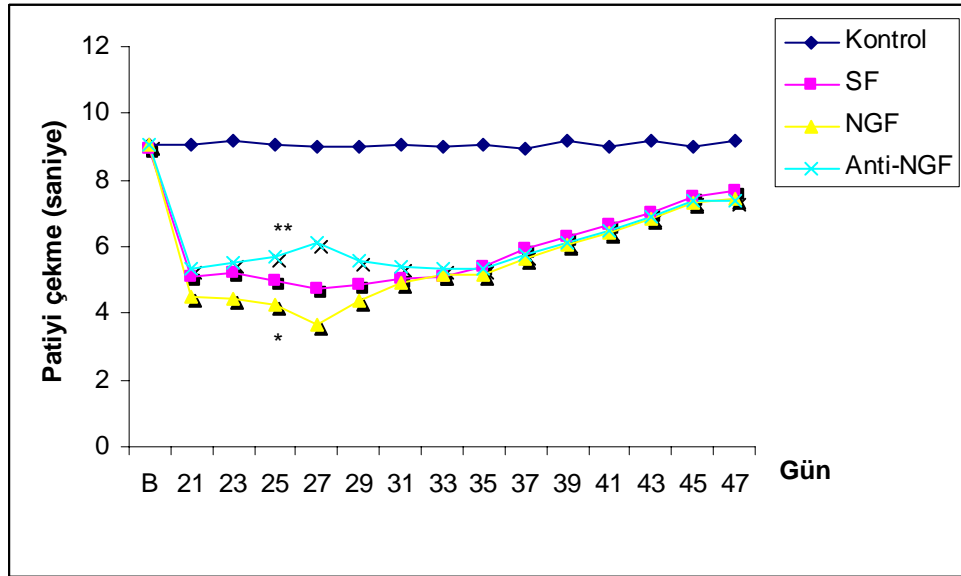
B: CCI öncesi bazal değerler

* $p<0,05$ (SF grubuna göre NGF grubundaki anlamlı değerler)

** $p<0,05$ (SF grubuna göre Anti-NGF grubundaki anlamlı değerler)

Sıcak ağrı eşikleri açısından Grup NGF ve Grup SF istatistiksel olarak karşılaştırıldığında, NGF grubunda postoperatif 23 ile 30. günler arası olarak anlamlı derecede sıcak hiperaljezi gözlenmiştir (Şekil 9, $p<0,05$).

Sıcak ağrı eşikleri açısından Anti-NGF ve SF grupları istatistiksel olarak karşılaştırıldığında, Anti-NGF grubunda sıcak hiperaljezi postoperatif 25-32. günler arası anlamlı derecede engellenmiştir (Şekil 9, $p<0,05$).



Şekil 9. Grupların sıcak uyarana karşı davranışlarının ortalama değerleri

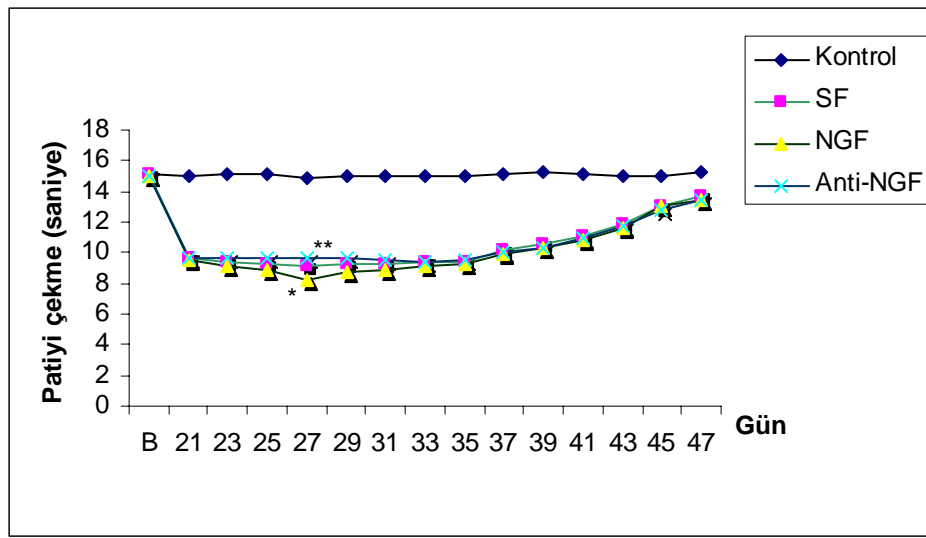
B: CCI öncesi bazal değerler

* $p<0,05$ (SF grubuna göre NGF grubundaki anlamlı değerler)

** $p<0,05$ (SF grubuna göre Anti-NGF grubundaki anlamlı değerler)

Soğuk ağrı eşiği açısından SF grubu ile karşılaştırıldığında; NGF grubunda postoperatif 25-33. günlerde istatistiksel olarak anlamlı derecede soğuk hiperaljezi saptanmıştır (Şekil 10, $p<0,05$).

Soğuk ağrı eşiği açısından SF grubu ile karşılaştırıldığında, Anti-NGF grubunda soğuk hiperaljezi postoperatif 27-31. günler arası istatistiksel olarak anlamlı derecede engellenmiştir (Şekil 10, $p<0,05$).



Şekil 10. Grupların soğuk uyarana karşı davranışlarının ortalama değerleri

B: CCI öncesi bazal değerler

* $p<0,05$ (SF grubuna göre NGF grubundaki anlamlı değerler)

** $p<0,05$ (SF grubuna göre Anti-NGF grubundaki anlamlı değerler)

6. TARTIŞMA

Nöropatik ağrı sinir sisteminin bir bölümünün hasarı ve/veya disfonksiyonu sonucu oluşmaktadır. Patofizyolojisinin daha iyi anlaşılması ve yeterli tedavi sağlanması için günümüzde çeşitli hayvan modelleri ile çalışmalar yapılmaktadır. Bu çalışmalarda nöropatik ağrı patogenezi ile ilgili birçok mekanizma öne sürülmüştür (1, 9, 14, 15).

Çalışmamızda nöropatik hasarlı bölgeye lokal olarak uyguladığımız NGF'nin mekanik, sıcak ve soğuk hiperaljeziyi sırasıyla postoperatif 24-35, 23-30 ve 25-33. günler arası arttırdığını belirledik. Nöropatili sıçanların hasarlı bacağına lokal olarak anti-NGF uyguladığımızda, hasara bağlı oluşan mekanik, sıcak ve soğuk hiperaljezinin sırasıyla 24-35, 25-32 ve 27-31. günler arası engellendiğini belirledik.

Pek çok çalışmada NGF'nin küçük çaplı nosiseptif sensoryal nöronlar üzerine nöroprotektif etkisinin olduğu gösterilmiştir. Hasara uğrayan sinirde sağlam kalan sinir liflerinde NGF üretimi ciddi olarak artarken, bir yandan da hasarlanan liflerdeki Schwann hücreleri de büyük miktarda NGF sentezlemeye başlamaktadır. NGF'nin hasarlı bölgede bazı faktörleri etkileyerek regülatör rol oynadığı saptanmıştır. NGF'nin nöroprotektif etkileri ile birlikte algojenik etkileri olduğu saptanmıştır (35, 36).

Nöropatik ağrı fizyopatolojisinde çok çeşitli faktörlerin etkili olmasından ve NGF'nin regülatör rolünden yola çıkarak; çalışmamızda nöropatik ağrı oluşturulan deneklerde lokal uygulanan NGF ve anti-NGF'nin etkilerini araştırdık. NGF ve anti-NGF tedavisinin nöropatik ağrılı deneklerde oluşturduğu davranışsal değişimleri saptamaya çalıştık.

Sıçanlarda CCI modeliyle nöropatik ağrı oluşturduğumuz çalışmamızda, NGF ve anti-NGF'nin CCI'ya bağlı oluşan hiperaljezik yanıtı arttırdığını ortaya koyduk.

Anti-NGF tedavisi ile CCI sonucu oluşan hiperaljezik yanıtın engellendiğini saptadık. Nöropatik hasarlı bölgeye düşük dozda uygulanan NGF CCI sonucu oluşan mekanik, sıcak ve soğuk hiperaljeziyi arttırmıştır. Nöropatik hasarlı bölgeye düşük dozda anti-NGF uygulandığında ise nöropatik hasara bağlı oluşan mekanik, sıcak ve soğuk hiperaljezik yanıtın engellendiği görülmüştür. Bu sonuçlar; NGF'nin nöropatik ağrıdaki algojenik faktörlerden biri olduğunu ortaya koymaktadır.

DeneySEL nöropatik ağrı oluşturmada en çok kullanılan yöntemlerden biri olan CCI modeli, insanlardaki lumbal disk herniasyonu ile oluşan spinal kök irritasyonu ya da tuzak nöropatisinde olduğu gibi kronik sinir kompresyonunu taklit eder (16). CCI modelinin patofizyolojisinde periferik ve santral sinir sisteminin beraberce rol aldığı bildirilmiştir. Siyatik sinire yapılan kronik konstriksiyon kan akımını azaltmakta, fakat tamamen durdurmamaktadır. Böylece en az birkaç hafta devam edecek olan intranöral ödeme neden olur. Konstriksiyonun neden olduğu iskeminin yanında sutür materyaline bağlı gelişen lokal periaksonal inflamasyon ve lokal granülom oluşması nöropati gelişmesinde etkili olur. Meydana gelen nosiseptif değişiklikler muhtemelen nöropeptitler ve mikrosirkülasyon arasındaki kompleks ilişki nedeniyledir (38).

CCI modeli hasarın distalindeki miyelinli liflerde ve hasarlı sahanın proksimalindeki az kullanılan sinir liflerinde dejenerasyona yol açar (32). CCI; büyük ve küçük miyelinli lifler (A-beta ve A-delta lifleri) ile miyelinsiz C liflerinde belirgin demiyelinizasyon ve dejenerasyona yol açar. C liflerindeki hasar A lifleri ile karşılaştırıldığında, sinir ligasyonu sonrası daha geç ve daha düşük derecede meydana gelir (1, 38).

Decosterd ve Woolf tarafından 2000 yılında geliştirilen dallı sinir hasarı (SNI-Spared Nerve Injury); bilinen en son nöropatik ağrı modelidir. Bu modelde hasardan

sonraki ilk haftalar içerisinde gelişen belirgin ve sürekli mekanik ve soğuk allodini ile mekanik hiperaljezi altı ay boyunca devam eder. SNI modelinde hasarlı hayvanlarda oluşturulan ağrı benzeri duyular nöropatik ağrı sendromlu insanlardaki pek çok semptomla korrelasyon gösterir (39).

CCI uygulandıktan sonra deney hayvanlarında gelişen ağrı duyusu belirtileri hasarı takiben 2-7 gün içinde gözlenmeye başlar; 10-14 gün içerisinde en yüksek seviyeye yükselir ve yaklaşık iki ay içerisinde de ortadan kaybolur (38). Goff ve arkadaşları CCI modelini kullanarak ağrı oluşturdukları çalışmalarında mekaniksel ağrı eşliğinde meydana gelen azalmanın karşı taraf pençe ile karşılaştırıldığında 14. günde en fazla olduğunu, 28. günde ise sağ ve sol pençeler arasında anlamlı bir farkın olmadığını bildirmişlerdir (40).

Çalışmamızın ilk günü CCI işlemi uyguladığımız sıçanlardaki nöropatik hasar belirtilerini postoperatif her gün takip ettik ve 21. günde tüm deneklerde nöropati bulguları (ototomi davranışları ve mekanik-termal hiperaljezi) saptadık. Toplam 48 gün süren çalışmamızın son günlerinde nöropatiye bağlı mekanik ve termal hiperaljezik yanıtın azalmakta olduğunu gördük. Deneyimizin son gününde hiperaljezik yanıt sürüyor olsa da nöropatik hasarın yavaş yavaş sonlanmakta olduğunu düşündük. Çalışmamızdaki nöropati bulgularının iki aya yakın sürdüğünü gözledik. Bu sonuç literatürlerdeki nöropatik hasarın oluşum ve sona erme süreleri ile uyuşmaktadır.

Çalışmamızda pençe geri çekme davranışını kullanarak sıçanların mekanik, sıcak ve soğuk ağrı eşiklerini test ettik. Pençe geri çekme davranışı nöral yolakta yalnızca spinal sinaptik kavşakları değil, supraspinal kavşakları da kapsar ve modüle eder. Bu kavşaklar beyinden inen inhibitör yolağın komponentleri içindedir (41).

CCI modeli kullanılarak oluşturulan nöropatik ağrının mekanizmaları ile NGF ve anti-NGF arasındaki ilişki birçok araştırmacı tarafından incelenmiş ve birbirinden farklı sonuçlar bildirilmiştir.

Ren ve arkadaşları CCI modeli uyguladıkları NGF ve anti-NGF'nin nöropatiye bağlı oluşan davranışsal hiperaljezi üzerine etkilerini test etmişlerdir. Ligasyondan hemen sonra bir osmotik pompa ile hasarlı bölgeye NGF infüzyonu yaptıklarında, postoperatif 5. günden 2. haftaya kadar termal ve mekanik hiperaljezinin engellendiğini görmüşlerdir. NGF infüzyonuna postoperatif beşinci gün başlanan ratlarda ise aynı etkiler görülmemiştir. NGF infüzyonunun hasarın erken döneminde verilmesinin analjezik etki ile sonuçlandığı kararına varmışlardır. Anti-NGF infüzyonu yapılan ratlarda ise hiperaljezik yanıtta bir değişme gözlenmemiştir. Çalışmacılar eksojen uygulanan NGF'nin; aksotomiye bağlı aksonal atrofiyi engellediğini, sinir hasarı sonrasında sinaptik supresyonu iyileştirdiğini ve CCI'da primer afferent depolarizasyonu normale getirdiğini saptamışlardır. Anti-NGF'ün herhangi bir etki oluşturmamasını ise CCI sonrası meydana gelen hiperaljezinin maksimum düzeyde olmasına bağlamışlardır. Kullandıkları anti-NGF dozunun da bu sonuca sebep olabileceğini belirtmişlerdir (42).

Ro ve arkadaşları; lokal verdikleri NGF ve anti-NGF'nin, CCI modeline bağlı oluşan kollateral filizlenme ve nöropatik ağrı üzerine olan etkilerini araştırmışlardır. Sinirlerin bağlanmasıyla hemen sonra 30 gün boyunca hasar bölgesine lokal NGF ve anti-NGF enjeksiyonu yapılmıştır. Ligasyondan hemen sonra; bağlanan sinire NGF (150 nanogram) verildiğinde, sıcak ve soğuk hiperaljezinin sırasıyla 4-68 ve 4-28. günler arasında kaybolduğunu gözlemişlerdir. Yüksek doz uygulanan lokal anti-NGF'nin (1800 nanogram) sıcak ve soğuk hiperaljeziyi sırasıyla postoperatif 16-28. ve 8-34. günlerde yok ettiğini bulmuşlardır. Düşük doz uygulanan lokal anti-NGF

(18 nanogram) sıcak hiperaljezisini hafif düzeyde azaltırken soğuk hiperaljezisine etkisi olmamıştır. Çalışma sonuçlarına göre anti-NGF'nin etki başlangıcının geç ve kısa olması doza bağlanmıştır. Çalışmacılar anti-NGF enjeksiyonu ile nöropatik hasara bağlı gelişen ototominin şiddetinin anlamlı olarak azaldığını gözlemlemişlerdir. Bir önceki çalışmanın sonuçlarında olduğu gibi bu çalışmada da NGF'nin aksotominin bazı etkilerini geri döndürdüğü gözlenmiştir. Uygulanan anti-NGF'nin safen sinirden siyatik innervasyon sahasına olan kollateral gelişimin yayılımını engellediği saptanmıştır. Bu çalışmada uygulanan NGF ve anti-NGF'nin termal hiperaljeziyi farklı zamanlarda ortadan kaldırdığı gözlenmiştir. Çalışmacılar uygulanan bu ilaçların CCI'lı ratlarda davranışsal hiperaljezi gelişimine katkıda bulunan nörotrofik faktörlerde değişikliklere yol açtığını ortaya koymuşlardır. Bu çalışmada anti-NGF'nin, bu etkilerinden dolayı insanlardaki nöropatik ağrı tedavisinde alternatif bir analjezik olabileceği öne sürülmüştür (34).

Ro ve arkadaşlarının yaptığı diğer bir çalışmada CCI'lı ratlardaki nosiseptif kollateral yayılıma lokal anti-NGF uygulamasının etkisi araştırılmıştır. Boyalı plazma ekstravazasyon tekniği (dye-labeled plasma extravasation technique) kullanılarak safen sinirden hasarlı bölgede siyatik innervasyon alanına olan kollateral yayılım değerlendirilmiştir. Düşük ve yüksek dozda uygulanan lokal anti-NGF ile safen sinirden siyatik sinir innervasyon alanına kollateral yayılımın önlendiği ortaya konulmuştur. Bunun aksine distile su uygulanan deneklerde bu kollateral yayılımda herhangi bir blok görülmemiştir. Bu çalışmaya göre hasarlı alanın bitişiğindeki intakt kutanöz sinir liflerinden kaynaklanan lokal NGF'ye bağlı olarak kollateral sinir lifi artmaktadır (3).

Schuligoj ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada uzun süreli ciddi dozlarda NGF tedavisinin termal nosiseptif eşikte değişiklik yapmadan primer afferent nöronlarda nöropeptit (CGRP) sentezini stimüle ettiğini ortaya çıkarmışlardır (43).

CCI oluşturulduğu gün ile eş zamanlı ilaç tedavisine başlanan yukarıdaki çalışmalardan farklı olarak biz; nöropatik hasar oluşumunu saptadığımız gün ilaç uygulamalarına başladık. Bu da çalışmamızın 21. gününe denk geldi. Lokal uyguladığımız NGF'nin mekanik, sıcak ve soğuk hiperaljeziyi sırasıyla postoperatif 24-35, 23-30 ve 25-33. günler arası arttırdığını belirledik. Yukarıda tartıştığımız bazı çalışmalarda ortaya çıkan NGF'nin etkilerinin tersi yönünde bir sonuç oluştuğunu gözledik. Nöropatik hasar oluşuncaya kadar geçen 21 günde NGF uygulamadığımız için, sadece hasara bağlı bölgede artan NGF etkisini gözlediğimizi düşünüyoruz. Nöropati saptadığımız andaki hiperaljezik yanıtta hasara bağlı bölgede artan NGF düzeyinin etkisi olduğu inancındayız. Daha sonraki günlerde ilaç uygulamalarımızla da hiperaljezik yanıtta artış saptadık. NGF'nin hasarlı inflame dokulardaki duyuşal nöronlarda ve periferel aksonlarında, P maddesi ve CGRP seviyelerini regüle etmesi hiperaljezik etkilerinin altında yatan mekanizmalardan biri olarak görölmektedir (44).

Çalışmamızda nöropatili sıçanların hasarlı bölgesine lokal olarak anti-NGF uyguladığımızda, hasara bağlı oluşun mekanik, sıcak ve soğuk hiperaljezinin sırasıyla 24-35, 25-32 ve 27-31. günler arası engellendiğini belirledik. CCI sonrası oluşun hiperaljezik yanıtta birkaç faktörün yanında NGF'nin de etkili olduğunu düşünüyoruz. NGF tarafından regüle edilen P maddesi ve CGRP düzeylerinin inflame-hasarlı dokuda anti-NGF tarafından engellenmesi ile oluşabilecek hiperaljezinin önlendiğini düşünmekteyiz. Lokal uyguladığımız NGF ve anti-NGF ile

nöropatik ağrının periferik mekanizmalarını etkilediğimiz inancındayız. Bunu da hasarlı bölgede regülatör rolü olan NGF üzerinden yaptığımızı düşünüyoruz.

NGF'nin basitçe bozulmuş bir fizyolojik sinyalin yerini mi aldığı veya nöronlara sadece genel bir nörotrofik destek sağlamak suretiyle farmakolojik bir ajan olarak mı davrandığı tartışılmaktadır. Stoeckel ve arkadaşlarının yaptığı biyokimyasal ve morfolojik çalışmada ligatüre edilen sinir tarafından NGF'nin alındığını ve yaklaşık birkaç saat içinde geriye doğru nöronal perikaryona transport edilebildiğini gözlemlemişlerdir. Bu şekilde NGF'nin DRG'nin hücre gövdelerinde olduğu kadar hasarlanmış alanda da etkiler gösterebildiğini saptamışlardır (45).

Mearow ve arkadaşlarının yaptığı çalışmaya göre lokal uygulanan anti-NGF tedavisi, NGF'nin reseptörlerine bağlanmasını ve hücre içerisine alınmasını önlemektedir. Sonuçta günlük düşük ve yüksek doz anti-NGF tedavisi ile kollateral yayılımın inhibe edildiği saptanmıştır. Bu çalışmaya göre NGF inflame veya hasarlı dokuda kollateral yayılımın regülasyonunda önemli rol oynamaktadır. Çalışmacılara göre uygulanan anti-NGF, lokal NGF mevcudiyetini bloke ederek kollateral yayılımı önlemektedir(46).

Çalışmamızda nöropatik hasarlı deneklerde NGF ve anti-NGF verilmesine bağlı oluşan kollateral değişimi değerlendirmedik. Bu çalışmada ilaçların uygulanması sonrası deneklerdeki davranışsal değişimleri değerlendirdik. Anti-NGF verilen deneklerde davranışsal hiperaljezik yanıtın engellendiğini saptadık. Bu etkilerin NGF'nin reseptörlerine bağlanmasını ve regülatör etki oluşturmasını engelleyerek oluşturulduğu inancındayız. Daha önceki tartıştığımız yayınlarda NGF'nin aksonal transport yoluyla hasarlı bölgede artmasıyla nöroprotektif etkiler oluşturduğu gözlenmişti. NGF'nin hasarlı bölgeye aksonal transportunun anti-NGF ile engellenmesi de hiperaljezik yanıtın oluşmamasında önemli rol oynamıştır.

Yapılan çalışmalarda NGF'nin in utero dönemde sinirin yaşaması için gerektiği, daha sonraki erken postnatal periyotta ise nosiseptif nöronların gelişmesi için NGF'ye ihtiyaç duyduğu saptanmıştır. NGF prototipik bir nörotropik bir faktör olup sempatik ve sensoryal nöronların gelişimi sürecinde sağkalım faktörüdür (47, 48). Birçok kaynakta NGF'nin duyuusal nöronlar içinde spesifik fonksiyonel nosiseptif nöron gruplarına etki ettiği belirtilmektedir. P maddesi gibi nöropeptit içeren küçük duyuusal nöronların gelişme sürecinde NGF azalımı olduğunda yaşayamadıkları saptanmıştır. Ayrıca erişkin sıçanlarda NGF azalımı sonrası bu peptitlerin düzeyinin azaldığı saptanmıştır (48, 49).

Yayınlarında NGF enjeksiyonunu takiben gelişen hiperaljezi, doku hasarında gelişen hiperaljeziye benzer görülmektedir. Pek çok kaynakta NGF'nin bu süreçte kritik öneme sahip olduğu belirtilmektedir (50). Hasarlı ve inflame dokularda NGF düzeyleri normal seviyelerinden çok yüksek bulunmuştur (51-53). Bu periferik artış ile birlikte NGF'nin siyatik sinirdeki retrograd transportu artmaktadır (54). Pek çok sitokin ve büyüme faktörü bu inflamasyon alanında artış göstererek ciltten ve sinirden kaynaklanan fibroblastları arttırarak NGF üretimini potent olarak yükseltmektedir. Bu mediyatörler arasında asidik ve bazik fibroblast büyütücü faktör, interlökin-1 β , TNF- α , trombosit kaynaklı büyütücü faktör, epidermal büyütücü faktör bulunmaktadır (55, 56).

Yapılan çalışmalarda NGF'nin önemli bir immünomediyatör role sahip olduğu ve inflamasyon sırasında immün hücrelerin cevabını potent olarak etkilediği öne sürülmektedir (57, 58). NGF'nin özellikle histamin salınan mast hücrelerini ve bazofil fonksiyonlarını etkilediği görülmektedir. İnflame dokuyu innerve eden duyuusal nöronlar üzerine NGF'nin iki major etkisi olduğu öne sürülmektedir:

1. Etkisi: NGF'nin indirekt olarak mast hücrelerini stimüle ederek degranülasyonuna yol açtığı ifade edilmektedir. Sıçan peritoneal mast hücrelerinin son zamanlarda büyük oranda yüksek affiniteli NGF reseptörü olan Trk A içerdiği bulunmuştur. Bu hücrelerin yaşaması için in vitro olarak NGF'ye ihtiyaç duyduğu gözlenmiştir. Stimüle mast hücrelerinden salınan maddeler direkt olarak periferik mekanoreseptör sonlanması olan lifleri sensitize etmektedir. Bu durum eksojen NGF ile yapılan tedavinin hemen ardından görülen ısı hiperaljezisini açıklayabilir denilmektedir.

2. Etkisi: İnflamasyon dokuda yüksek NGF'nin duyu nöronları üzerindeki direkt etkisi gözlenmiştir. NGF duyu nöronları üzerindeki reseptörlere bağlanabilir ve hücre gövdesine retrograd olarak transport edilerek gen ekspresyonu düzeyinde P maddesi ve CGRP gibi nöropeptitlerin üretiminde hızlı bir artışa yol açabilir. İnflamasyon dokuda duyu nöronlarında ve periferik aksonlarında bu iki peptidin seviyelerinde artış olduğu belirtilmektedir (59, 60).

Yapılan deneylerde inflamasyon oluşturulan deneklerde inflamasyona eşlik eden hiperaljezinin eş zamanlı uygulanan anti-NGF ile hafiflediği gösterilmiştir (4, 5).

Çalışmamızda periferik sinirde oluşturduğumuz nöronal hasarla inflamasyona sebep olduğumuzu ele alırsak; bu inflamasyon dokuda artan NGF miktarı ile orantılı olarak direkt ve indirekt etkiler gözlenmesi kaçınılmazdır. Hem hasara bağlı hem de lokal yolla eksojen verdiğimiz NGF'nin artışı ile hasarlı bölgedeki duyu nöronlarında ve periferik aksonlarda P maddesi ve CGRP düzeyleri artacaktır. Her iki nöropeptit de nörotransmitter görevi gören moleküller arasında sayılmaktadır. Bunların ağrının iletiminde ve algılanmasında eksitator etki gösteren nörotransmitterler arasında olduğu bilinmektedir (9, 11). Bu nöropeptitlerin hasarlı

bölgede artışı ile nöropatik ağrıya bağlı oluşan hiperaljezik yanıtın daha da artacağı şüphesizdir. Ayrıca artan NGF miktarının, indirekt etki ile mast hücrelerinde degranülasyona neden olarak histamin salınımını indüklediğini düşünüyoruz. Ro ve arkadaşları nöropatik hasarlı periferik sinirde kollateral filizlenmenin NGF miktarı ile ilişkili olduğunu saptamışlardır (34). Filizlenmelerin oluştuğu sinirler histamin, bradikinin, serotonin ile uyarıldığında abartılı yanıtlar verirler (15,16). Çalışmamızda da NGF'nin etkisiyle artan histamine bağlı periferik liflerin sensitize hale geldiği düşünülürse hiperaljezik yanıtın artması beklenen bir etki olur. Bu yönde yapılacak hücresel çalışmalarla bu etkinin daha da aydınlanacağına inanıyoruz. Çalışmamızda NGF'nin bu direkt ve indirekt etkilerini anti-NGF ile engellemiş olmamız da bu yöndeki düşüncelerimizi haklı çıkarmaktadır.

Kryger ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmalarda NGF'nin, nöroma formasyonu patogenezi yanında nöropatik ağrı gelişiminde rol oynadığı saptanmıştır. Bu amaçla deneklerin nöropatik hasar oluşturulan ayaklarına osmotik pompa yardımı ile 30 gün boyunca NGF antagonisti olarak Trk A-IgG infüzyonu uygulamışlardır. Denerve ayak nöropatik ağrının işareti olan ototomi yönünden ilk iki hafta boyunca monitörize edilmiştir. Sonuç olarak bu çalışmada sinir yaralanmalarının ardından NGF inhibisyonunun hücre hasarı dışında nöroma formasyonunu ve nöropatik ağrıyı azaltabileceği ortaya konmuştur (59). Nöroma oluşumunun afferent hipereksitabilite alanı ve ektopik deşarjların kaynağı olduğu hatırlanırsa bunun engellenmesinin önemi anlaşılır (15, 16).

Lewin ve arkadaşlarının yaptığı deneyde NGF verilmesinden yedi saat sonra görülen uzun süreli ısı hiperaljezisinin NMDA reseptörlerinin aktivasyonuna bağlı olduğu öne sürülmüştür. Bu sonuç non kompetitif bir NMDA antagonisti verilmesi ile mekanik hiperaljezinin bloke edilmesine bağlanmıştır. Çalışmacılara

göre NGF tarafından indüklenen bu mekanik hiperaljezik etki NMDA reseptör aktivasyonundan bağımsız olmaktadır. Ayrıca bu çalışmada NGF düzeyi yükselmesi ile hem mekanik hem de ısı hiperaljezisi oluşturulabilir görüşüne yer verilmiştir. Araştırmacılar bu iki tip hiperaljezik etkide iki major yol öne sürmüşlerdir. Uzun süreli ısı ve mekanik hiperaljezi dorsal kök gangliyonlarındaki nöropeptit düzeylerinin artmasından kaynaklanabilir denilmektedir. Bu nöropeptitlerin santral salınımı santral sensitizasyona yol açabilmektedir. Çalışmacılar uzun süreli ısı hiperaljezisinin NMDA üzerinden yürütülen nörotransmisyonadaki artışa bağlı olabileceğini saptamışlardır. Eksojen NGF tedavisinden sonraki hızlı gelişen ısı hiperaljezisini periferdeki ısıya bağlı C lifleri sensitizasyonuna bağlamışlardır. Bu durumun NGF'nin mast hücrelerinden salınan ajanları indüklemesiyle oluştuğunu düşünmüşlerdir (44).

Verge ve arkadaşlarının yaptığı deneysel çalışmada siyatik sinir hasarından sonra yapılan radyootografik incelemede hasarlı tarafta NGF reseptör sayısında azalma olurken, NGF infüzyonu yapılanlarda neredeyse normal seviyelerde NGF reseptörlerine rastlanılmıştır. Bu çalışmada; periferik sinir hasarı sonrası bazı duyu nöronları üzerindeki yüksek affiniteli reseptör sayısının %80'den fazla bir oranda azaldığı saptanmıştır. Deney sonucu olarak sinir hasarından sonraki NGF reseptör miktarındaki azalma periferik ve santral aksonlardaki reseptör düzeyindeki azalma ile birliktelik gösterir denilmektedir. NGF'nin siyatik sinir hasarından 3 hafta sonra gecikmiş olarak verilmesi reseptör dansitesini normal değerlerine getirmiş ve kısmen de olsa nöronal hücre volümünü onarmıştır (60).

Yaptığımız çalışmada nöropatik hasar sonrası NGF reseptör dansitesini araştırmadık. Ama lokal verdiğimiz NGF tedavisi ile termal ve mekanik uyaranlara karşı hiperaljezik yanıt aldık. Nöropati saptadıktan sonra hasarlı bölgeye

uyguladığımız NGF enjeksiyonuna hiperaljzik yanıt almamız, bu bölgedeki NGF reseptörlerinin aktif olduğunu göstermektedir. NGF enjeksiyonu öncesi hasarlı bölgedeki NGF reseptörleri miktarı ve affinitesi hakkında daha ileri araştırmalara ihtiyaç olduğu kanısındayız.

Young ve arkadaşları yaptıkları çalışmada spinal kord hasarı oluşturdukları ratlara intraperitoneal (i.p.) verilen anti-NGF'nin mekanik ağrı eşiğine etkilerini araştırmışlardır. T12 spinal yarı kesi yapılarak oluşturulan spinal kord hasarı, santral ağrı sendromuna sebep olmuş ve sonuçta mekanik hiperaljezi gözlenmiştir. Daha sonra hayvanlara günlük olarak i.p. 10 gün boyunca grubuna göre anti-NGF veya serum fizyolojik verilmiştir. Salin tedavisi verilen spinal kord hasarlı grupta mekanik hiperaljezi geliştiği gözlemlenmiştir. Anti-NGF ile tedavi edilen grupta ise mekanik hiperaljezinin önemli ölçüde suprese olduğu görülmüştür. Çalışmacılara göre santral ağrı sendromuna katkıda bulunan mekanizmalardan bir tanesi de spinal kord içinde bulunan P maddesi ve CGRP gibi nöropeptitler tarafından regüle edilen nöronal cevaptaki artıştır. NGF, nöropeptitlerin salınımını regüle edebildiğinden spinal kord hasarını takiben santral ağrı gelişimini de etkileyebilir. Bu sonuçlar anormal somatosensoryal davranış gelişiminin anti-NGF ile önlendiğine işaret etmekle birlikte, santral ağrı için anti-NGF'nin potansiyel bir preemtif analjezik tedavi olduğuna işaret etmektedir (61).

Bir anti-tümör ilaç olan taksol'un nörotoksik etkileri NGF tarafından hafifletilmektedir (62). NGF verilmesi ile streptozosin kullanılan sıçan modellerindeki diyabetik nöropatiye bağlı oluşan bazı biyokimyasal değişiklikleri engellediği görülmüştür (63). Bu çalışmalar NGF'nin nöroprotektif etkilerine işaret etmektedir. Bu etkisi ile periferel nöropatinin önlenmesinde ve tedavisinde potansiyel klinik bir öneme sahip olduğu ortaya konulmaktadır.

NGF'nin hiperaljezinin eşlik ettiği doku hasarıyla olan ilişkisine dair yapılan bir çalışmada iki major gözlem saptanmıştır. Birinci gözleme göre doku enflamasyonu hasar alanında NGF düzeylerinin dramatik bir artışına yol açmakta ve bu yeni sentezlenen NGF retrograd olarak hücre gövdesine transport edilmektedir. İkinci gözlemleri ise ratlara NGF verilmesi ile derin ve uzun süreli bir hiperaljezi oluşturulmasıdır (54).

Yıldız ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada travmatik fasiyal sinir paralizilerinde cerrahi anastomoz sonrası sinir iyileşmesi üzerine NGF'nin etkileri araştırılmıştır. NGF'nin rejenerasyon süresini hızlandırdığı saptanmıştır (64).

Nöropatik ağrıdaki santral mekanizmalara bakıldığında, sinir hasarına bağlı olarak DRG ve dorsal boynuz nöronlarında transkripsiyonel değişiklikler gözlenmektedir. DRG ve dorsal boynuzda sensitivitenin başlamasında yer alan birçok ikinci mesajcı kaskadları mevcuttur. Bunlardan bazıları Protein kinaz A, Protein kinaz C, Nitrik Oksit Sentaz ve MAPK olarak sayılabilir (16, 17). Nöropatik ağrıda birçok faktörün davranışsal değişimlere yol açtığı düşünülürse, yeni görüşlerin de ortaya çıkması doğaldır.

Sonuç olarak nöropatik hasarlı bölgeye lokal olarak uygulanan NGF, nosiseptif etki göstererek hasara bağlı oluşan hiperaljezik yanıtı arttırmıştır. Aynı bölgeye uygulanan lokal anti-NGF, antinosiseptif etki ile hasara bağlı oluşan hiperaljezik yanıtı engellemiştir. Bu sonuçlarda NGF'nin oluşturulan hasar alanında aksonal transport yoluyla artışının, buna bağlı hasarlı bölgede artan NGF düzeyi ile birlikte eksitator nörotransmitter olan P maddesi ve CGRP düzeyinin artışının etkili olduğu inancındayız. Ayrıca NGF'nin çalışmalarla saptanan nöroprotektif etkilerinin de bu sonuçların oluşmasında rolü olduğunu düşünmekteyiz.

7. KAYNAKLAR

- 1.Talu GK. Nöropatik Ağrı: Erdine S (editör). Ağrı. 2. Baskı, İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri. 2002:368-374.
- 2.Erdine S. Ağrı Mekanizmaları: Erdine S (editör). Ağrı. 2. Baskı, İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri. 2002:20-29.
- 3.Ro LS, Chen ST, Tang LM, Chang HS. Local application of anti-NGF blocks the collateral sprouting in rats following chronic constriction injury of the sciatic nerve. *Neurosc Lett* 1996;218:87-90.
- 4.Aloe L, Levi-Montalcini R. Mast cells increase in tissues of neonatal rats injected with the nerve growth factor. *Brain Res* 1977;133:358-366.
- 5.Bischoff SC, Dahinden CA. Effect of nerve growth factor on the release of inflammatory mediators by mature human basophils. *Blood* 1992;79:2662-2669.
- 6.Raj PP. Ağrı Taksonomisi: Erdine S (editör). Ağrı. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri. 2002:12-19.
- 7.Önal SA. Nöropatik Ağrı: Önal SA (editör). Algoloji. 1. Baskı, İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri. 2004:83-87.
8. Hudspith MJ, Sindall PJ, Munglani R. Physiology of pain. Hemmings HC, Hopkins PM (editors). *Foundations of Anesthesia*. Second Edition, Mosby Elsevier Philadelphia.2005:267-285.
9. Johnson WJ. Pain Mechanisms: Anatomy, Physiology, and Neurochemistry. Raj PP (editor). *Practical Management of Pain*. Third Edition, Mosby Missouri. 2005:117-143.

10. Morgan GE, Mikhail MS, Murray MJ, Larson CP. Klinik Anesteziyoloji. Tulunay M, Cuhruk H (editörler). 3. Baskı, Ankara: Güneş Kitabevi 2004:310-358.

11. İnalkaç S. Ratlarda intratekal melatonin uygulanmasının antinosiseptif etkisinin değerlendirilmesi. Uzmanlık Tezi, Elazığ: Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi, Anesteziyoloji ve Reanimasyon AD, 2003.

12. Beaulieu P, Rice ASC. Applied physiology of nociception. In: Rowbotham DJ, Macintyre PE (editors). Acute pain. Second Edition, London: Arnold Press 2003:3-16.

13. Fürst S. Transmitter involved in antinociception in the spinal cord. Brain Res Bulletin 1999; 48:129-14.

14. Dworkin RH. An overview of neuropathic pain: Syndromes, symptoms, signs and several mechanisms. Pain 2002;18:343-349.

15. 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.

16. Zimmermann M. Pathobiology of neuropathic pain. Euro J Pharmacol 2001;429:23-37.

17. Costigan M, Woolf CJ. Pain: Molecular mechanisms. Pain 2000;1:35-44.

18. 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.

19. 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.
20. Smith HS, Sang CN. The evolving nature of neuropathic pain: individualizing treatment. *Euro Pain* 2002;6:37-44.
21. Hansson P. Neuropathic pain: clinical characteristics and diagnostic workup. *Euro Pain* 2002;6:47-50.
22. Vega JA, Garcia-Suarez O, Hannestad J, Perez-Perez M, Germana A. Neurotrophins and the immune system. *J Anat* 2003;203:1-19.
23. Scholl of Crystallography: Birbeck, University of London. <http://people.cryst.bbk.ac.uk/ubcg09j/neurotrophins/esn11/esn11.html>, 1996.
Erişim tarihi: Ağustos 2006
24. Shoster EM. Early days of the nerve growth factor proteins. *Annu Rev Neurosci* 2001;24:601-629.
25. Frossard N, Freund V, Advenier C. Nerve growth factor and its receptors in asthma and inflammation. *Eur J Pharmacol* 2004;500:453-465.
26. 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.
27. Gilbert SF, *Developmental Biology*, Seventh Edition. <http://7e.devbio.com/article.php?id=143.html>. 2003. Erişim tarihi: Ağustos 2006
28. Sofroniev MV, Howe CL, Mobley WC. Nerve growth factor signalling, neuroprotection and neural repair. *Annu Rev Neurosci* 2001;24:1217-1281.

29. 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.
30. Brancucci A, Kuczewsky N, Covaceuszach S, Cattaneo A, Domenici L. Nerve growth factor favours long-term potentiation in layer II-III neurons of rat visual cortex. *J Physiol* 2004;559:497-506.
31. Salehi A, Delcroix JD, Swaab DF. Alzheimer's disease and NGF signalling. *J Neural Transm* 2004;111:323-345.
32. Jacobowska-Doğru E, Gümüşbaş U. Chronic intracerebroventricular NGF administration improves working memory in young adult memory deficient rats. *Neurosc Lett* 2005;382:45-50.
33. Ueda M, Hirose M, Takei N, Ibuki T, Naruse Y, Amaye F, et al. Nerve growth factor induces systemic hyperalgesia after thoracic burn injury in the rat. *Neurosc Lett* 2002;328:97-100.
34. Ro LS, Chen ST, Tang LM, Jacobs JM. Effect of NGF and anti-NGF on neuropathic pain in rats following chronic constriction injury of the sciatic nerve. *Pain* 1999;79:265-274.
35. McMahon SB, Cafferty WB. Neurotrophic influences on neuropathic pain. *Novartis Found Symp* 2004;261:68-92.
36. Fukuoka T, Noguchi K. Contribution of the spared primary afferent neurons to the pathomechanisms of neuropathic pain. *Mol Neurobiol* 2002;26:57-67.

37. Boucher TJ, Okuse K, Bennett DL, Munson JB, Wood JN, McMahon SB. Potent analgesic effects of GDNF in neuropathic pain states. *Science* 2000;290:124-127.

38. Kartal F, Özyalçın NS. Hayvanlarda Akut ve Kronik Ağrı Modellerinin Değerlendirilmesi. Önal SA (editör). *Algoloji*. 1. Baskı, İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri 2004: 299-324

39. Erichsen HK, Gordon BM. Pharmacological characterisation of the spared nerve injury model of neuropathic pain. *Pain* 2002;98:151-161.

40. Goff JR, Burkey AR, Goff DJ, Jasmine L. Reorganization of the spinal dorsal horn in models of chronic pain: correlation with behaviour. *Neurosci* 1998; 82:559-574.

41. Inoue T, Mashimo T, Shibata M, Shibuta S, Yoshiya I. Rapid development of nitric oxide-induced hyperalgesia depends on an alternate to the cGMP-mediated pathway in the rat neuropathic pain model. *Brain Res* 1998;792:263-270.

42. Ren K, Thomas DA, Dubner R. Nerve growth factor alleviates a painful peripheral neuropathy in rats. *Brain Res* 1995;699:286-292.

43. Schuligoi R, Aman R. Differential effects of treatment with nerve growth factor on thermal nociception and on calcitonin gene-related peptide content of primary afferent neurons in the rat. *Neurosci Lett* 1998; 252:147-149.

44. Lewin GR, Rueff A, Mendell LM. Peripheral and central mechanisms of NGF-induced hyperalgesia. *Eur J Neurosci* 1994;6:1903-1912.

45. Stoeckel K, Schwab M, Thoenen H. Specificity of retrograde transport of nerve growth factor (NGF) in sensory neurons: a biochemical and morphological study. *Brain Res* 1975;89:1-14.
46. Mearow KM, Kril Y. Anti-NGF treatment blocks the upregulation of NGF receptor mRNA expression associated with collateral sprouting of rat dorsal root ganglion neurons. *Neurosci Lett* 1995;184:55-58.
47. Barde YA. Trophic factors and neural survival. *Neuron* 1989;2:1525-1534.
48. Gorin PD, Johnson EM Jr. Effects of long-term nerve growth factor deprivation on the nervous system of the adult rat: an experimental autoimmune approach. *Brain Res* 1980;198:27-42.
49. Goedert M, Otten U, Hunt SP, Bond A, Chapman D, Schlumpf M, Lichtensteiger W. Biochemical and anatomical effects of antibodies against nerve growth factor on developing rat sensory ganglia. *Proc Natl Acad Sci* 1984;81:1580-1584.
50. Trede RD, Mayer RA, Raja SN, Campbell JN. Peripheral and central mechanisms of cutaneous hyperalgesia. *Prog Neurobiol* 1992;38:397-421.
51. Weskamp G, Otten U. An enzyme-linked immunoassay for nerve growth factor (NGF): a tool for studying regulatory mechanisms involved in NGF production in brain and in peripheral tissues. *J Neurochem* 1987;48:1779-1786.
52. Varilek GW, Weinstock JV, Pantazis JN. Isolated hepatic granulomas from mice infected with *Schistosoma mansoni* contain nerve growth factor. *Infect Immun* 1991;59:4443-4449.

53. Aloe L, Taveri MA, Levi-Montalcini R. Studies on carrageenan-induced arthritis in adult rats: presence of nerve growth factor and role of sympathetic innervation. *Rheumatol Int* 1992;12:213-216.

54. Donnerer J, Schuligoi R, Stein C. Increased content and transport of substance P and calcitonin gen-related peptide in sensory nerves innervating inflamed tissue: evidence for a regulatory function of nerve growth factor in vivo. *Neurosci* 1992;49:693-698.

55. Lindholm D, Heumann R, Meyer M, Thoenen H. Interleukin-1 regulates synthesis of nerve growth factor in non-neuronal cells of rat sciatic nerve. *Nature* 1987;330:658-659.

56. Yoshida K, Gage FH. Cooperative regulation of nerve growth factor synthesis and secretion in fibroblasts and astrocytes by fibroblast growth factor and other cytokines. *Brain Res.* 1992;569:14-25.

57. Gee AP, Boyle MD, Munger KL, Lawman MJ, Young M. Nerve growth factor: stimulation of polymorphonuclear leukocyte chemotaxis in vitro. *Proc Natl Acad Sci* 1983;80:7215-7218.

58. Otten U, Ehrhard P, Peck R. Nerve growth factor induces growth and differentiation of human B lymphocytes. *Proc Natl Acad Sci* 1989;16:10059-10063.

59. Kryger GS, Kryger Z, Zhang F, Shelton DL, Lineaweaver WC, Buncke HJ. Nerve growth factor inhibition prevents traumatic formation in the rat. *J Hand Surg* 2001;26:635-644.

60. Verge VMK, Riopelle RJ, Richardson PM. Nerve Growth Factor Receptors on Normal and Injured Sensory Neurons. *J Neurosci* 1989;9:914-922.

61. Young SG, Nam TS, Paik KS, Hulsebosch CE, Leem JW. Attenuation of mechanical hyperalgesia following spinal cord injury by administration of antibodies to nerve growth factor in the rat. *Neurosc Lett* 2003;336:117-120.

62. Peterson ER, Crain SM. Nerve growth factor attenuates neurotoxic effects of taxol on spinal cord-ganglion explants from fetal mice. *Science* 1982;217:377-379.

63. Ren K, Dubner R. NMDA receptor antagonists attenuate mechanical hyperalgesia in rats with unilateral inflammation of the hindpaw. *Neurosci Lett*. 1993;163:22-26.

64. Yıldız M. Travmatik fasiyal sinir paralizlerinde iyileşme üzerine GGF, NGF, Metilprednizolon ve N-asetilsisteinin etkileri: Deneysel bir hayvan çalışması. Uzmanlık Tezi, Elazığ: Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi, KBB AD, 2004.

8. ÖZGEÇMİŞ

19.01.1974 tarihinde Antakya'da doğdum. İlkokul öğrenimimi Hatay İlkokulu'nda, ortaokul öğrenimimi Antakya Atatürk Ortaokulu'nda tamamladım. Lise öğrenimimi Antakya Merkez Lisesi'nde tamamladım. 1992 yılında girdiğim Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi'nden 1998 yılında mezun oldum. Mardin ve Hatay illerinde pratisyen hekim olarak çalıştım. 2002 yılı Eylül ayından beri Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Anesteziyoloji ve Reanimasyon A.D.'da araştırma görevlisi olarak çalışmaktayım.