

**T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS PROGRAMI**

Tez Yöneticileri
Prof. Dr. Ahmet ULUGÖL
Yrd. Doç. Dr. Özgür GÜNDÜZ

**KANNABİNOİDLERİN ANTİPRURİTİK ETKİLERİNDE
İNİCİ SEROTONERJİK VE NORADRENERJİK
SİSTEMLERİN ROLÜ**

(Yüksek Lisans Tezi)

Zeynep Gizem TODURGA

Referans no: 10008284

EDİRNE – 2015

**T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS PROGRAMI**

Tez Yöneticileri
Prof. Dr. Ahmet ULUGÖL
Yrd. Doç. Dr. Özgür GÜNDÜZ

**KANNABİNOİDLERİN ANTİPRURİTİK ETKİLERİNDE
İNİCİ SEROTONERJİK VE NORADRENERJİK
SİSTEMLERİN ROLÜ**

(Yüksek Lisans Tezi)

Zeynep Gizem TODURGA

Destekleyen Kurum : TÜBAP-2013/44

Tez No :


EDİRNE – 2015

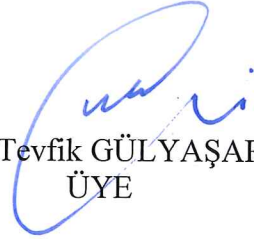
T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitü Müdürlüğü

O N A Y

Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı çerçevesinde ve Prof. Dr. Ahmet ULUGÖL'ün danışmanlığında Yüksek Lisans öğrencisi Zeynep Gizem TODURGA'ya ait tarafından tez başlığı "Kannabinoidlerin Antipruritik Etkilerinde İnci Serotonerjik ve Noradrenerjik Sistemlerin Rolü" olarak teslim edilen bu tezin tez savunma sınavı 26.01.2015 tarihinde yapılarak aşağıdaki jüri üyeleri tarafından "**Yüksek Lisans Tezi**" olarak kabul edilmiştir.


Prof. Dr. Ahmet ULUGÖL
JÜRİ BAŞKANI


Prof. Dr. Ç. Hakan KARADAĞ
ÜYE


Doç. Dr. Tevfik GÜLYAŞAR
ÜYE

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

Doç. Dr. Tammam SİPAHİ
Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimimde bana her konuda destek olan tez danışmanlarım Prof. Dr. Ahmet ULUGÖL ve Yrd. Doç. Dr. Özgür GÜNDÜZ'e, Prof. Dr. Ç. Hakan KARADAĞ, Prof. Dr. Dikmen DÖKMECİ'ye, ilgi ve yardımlarını yüksek lisansım boyunca esirgemeyen Kübra DUVAN AYDEMİR ve Ruhan Deniz TOPUZ'a, her zaman sabırla beni destekleyen aileme ve desteklerinden dolayı TÜBAP'a teşekkür ediyorum.

İÇİNDEKİLER

GİRİŞ VE AMAÇ	1
GENEL BİLGİLER	3
KAŞINTI	3
KAŞINTININ İLETİM TEORİLERİ	4
KAŞINTININ ALGILANMASI	4
KAŞINTININ BİYOLOJİK MEDİYATÖRLERİ VE RESEPTÖRLERİ	8
KAŞINTI VE AĞRI ARASINDAKİ İLİŞKİ	14
KANNABİNOİDLER	15
İNİCİ İNHİBİTÖR SİSTEM	16
KULLANILAN İLAÇLAR	18
GEREÇ VE YÖNTEMLER	22
BULGULAR	28
TARTIŞMA	34
SONUÇLAR	38
ÖZET	39
SUMMARY	40
KAYNAKLAR	41
ŞEKİLLER LİSTESİ	50
ÖZGEÇMİŞ	51
EKLER	

SİMGE VE KISALTMALAR

AEA	: Anandamid
BB2	: Bombesin benzeri reseptör-2
CB1	: Cannabinoid-1
CB2	: Cannabinoid-2
CBD	: Cannabidiol
DKG	: Dorsal kök gangliyonu
5,7-DHT	: 5,7-Dihidroksitriptamin
FAAH	: Fatty acid amide hydrolase
GABA	: γ -aminobütirik asit
GPCR	: G protein coupled receptor
GRP	: Gastrin releasing peptide
GRPR	: Gastrin releasing peptide receptor
5-HT	: 5-Hidroksitriptamin
IL-31	: Interleukine-31
İ.c.v.	: Intracerebroventricular
İ.d.	: İntradermal
İ.p.	: İntraperitoneal
İ.t.	: İntratekal
İ.v.	: İntravenöz
LC	: Locus coeruleus
LPA	: Lysophosphatidic acid

LTB4	: Lökotrien B4
MOR	: μ -opioid reseptörü
NA	: Noradrenalin
NK1R	: Nörokinin-1 reseptörü
NMDA	: N-metil-D-aspartat
6-OHDA	: 6-Hidroksidopamin
PAG	: Periaquaduktal gri madde
PAR	: Proteinaz ile aktive edilen reseptör
RVM	: Rostral ventrolateral medulla
SSS	: Santal sinir sistemi
STY	: Spinal talamik yol
THC	: Δ 9-tetrahydrocannabinol

GİRİŞ VE AMAÇ

Sık görülen ve insanlara son derece huzursuzluk veren bir semptom olan kaşıntı, sadece deri hastalıklarında değil aynı zamanda sistemik hastalıklarda da görülür. Patofizyolojik özellikleri açısından ağrı ile kaşıntı arasında birçok benzerlik bulunmaktadır. Yakın zamanda, ağrıya benzer şekilde kaşıntıda da sadece periferik mekanizmaların değil, santral mekanizmaların da rol oynadığının ortaya çıkması kaşıntı tedavisi yaklaşımlarını değiştirmeye başlamıştır. Örneğin, omurilikteki nörotransmitter reseptörleri antipruritik tedaviler için bir hedef haline gelmektedir (1-3). Kaşıntı mekanizmalarının tam olarak aydınlatılması, çok daha etkin ancak daha az istenmeyen etkiye sahip yeni antipruritik ilaçların bulunma olasılığını artıracaktır.

Kannabinoidlerin analjezik etkinlikleri çok uzun yıllardır bilinmesine karşın (4-6), bu ilaçlar istenmeyen etkinliklerinin fazlalığı ve suistimal edilme potansiyelleri nedeniyle tedavide etkin bir şekilde kullanılamamışlardır. Son senelerde, uzun süren araştırmalar sonucunda kannabinoidler bazı ülkelerde nöropatik ağrı, multipl skleroz vb. endikasyonlarda kullanılmak üzere onay almışlardır (7-9). Bu endikasyonların ve bu grup ilaçları kullanan ülke sayısının önümüzdeki yıllarda artması beklenmektedir.

Son senelerde, kannabinoidlerin antipruritik etkilerinin olduğu da gösterilmiştir. Henüz bu endikasyon için onay almamış durumda olmakla birlikte, konuya ilişkin yapılacak araştırmalar kannabinoidlerin klinikte bu amaçla kullanılmasını sağlayabilecektir. İnci serotonerjik ve noradrenerjik sistemlerin ağrı modülasyonunda rolü olduğuna ilişkin çalışmalar uzun senelerdir yapılmaktadır (10,11). Ayrıca, yakın

zamanda kannabinoidlerin antinosiseptif etkisine inisi serotonerjik ve noradrenerjik sistemlerin aracılık ettiği gösterilmiştir (4, 6, 10, 12).

Bu verilerden yola çıktığımız araştırmamızda öncelikle, serotonin ile kaşıntı oluşturmayı, daha sonra kannabinoid agonisti WIN 55,212-2 kullanılarak antipruritik etkinlik ortaya çıkartmayı, en sonunda da inisi serotonerjik ve noradrenerjik sistemler harap edildiğinde kannabinoid agonistinin antipruritik etkinliğindeki değişiklikleri değerlendirmeyi hedefledik.

GENEL BİLGİLER

KAŞINTI

Kaşıntı; kaşınma yerinde kaşıma arzusu meydana getiren ve bu tutumun engellenmesi için ortaya çıkan, zaman zaman hayat kalitesini bozan, dermatolojik ve sistemik hastalıkların bir çeşidiyle ilişkili istenmeyen bir duygu durumu olarak tanımlanır (13-18). Kaşıntı, ağrı ve fiziksel ya da mekanik uyarımlarla beraber derideki duyuşal nöronal ağ içerisinde gerçekleşen fizyolojik bir algıdır (19). Kaşıntı akut ve kronik olmak üzere iki şekilde meydana gelebilir. Akut kaşıntı kaşınma duyuşunun oluştuğı alanda ortaya çıkar ve kısa süreli kaşıma ile bastırılabilir. Ancak kronik kaşıntının oluşmasında pek çok farklı etiyolojik neden olabilir (20).

Kaşıntının Sınıflaması

Kaşıntının iletilmesi ve santral sinir sistemi (SSS)'deki modülasyonuna dayanan kaşıntının etiyolojik sınıflaması dört grupta kategorize edilir: pruriseptif, nöropatik, nörojenik ve psikojenik kaşıntı (19,21-23).

Pruriseptif kaşıntı: Primer afferent sinir terminallerinin aktivasyonundan kaynaklanan bir kaşıntı durumudur. Kaşıntının bu tipi böcek ısırığı ya da pruritik (kaşıntı yapıcı) maddelerin intradermal (i.d.) enjeksiyonu ile ilgilidir ve inflamatuvar deri hastalıklarında oldukça yaygın bir semptomdur (21,22). Pruriseptif kaşıntı deride direkt olarak C lifleri aracılığıyla iletilir (19,22).

Nöropatik kaşıntı: Brakioradyal kaşıntı, postherpetik kaşıntı ve notalja parestetika örneklerinde olduğu gibi periferik sinirlerin ya da omuriliğin kaşıntıyı ileten aferentlerinin hasarı sonucu meydana gelir (19).

Nörojenik kaşıntı: Beyin tümörleri ya da abseler gibi SSS'nin santral yapısının zarar görmesi sonucu oluşur (19,21). Nörojenik kaşıntı viseral hastalıklarla ilgili olmasına rağmen kaşıntının altında yatan mekanizma oldukça karmaşıktır ve pruriseptif kaşıntıya da neden olabilir. Örneğin; kserez gibi deri fizyolojisinde değişimler meydana gelen üremik hastalarda duyuşal sinir liflerinin rol oynadığı bilinmektedir (21,24).

Psikojenik kaşıntı: Somatizasyon ve deliryum ile meydana gelir ve meydana gelmesinin altında mental hastalıklar yatar (21,25). Psikojenik kaşıntı aynı zamanda SSS'deki metabolik hastalıkların sonucu olarak da meydana gelebilir (19).

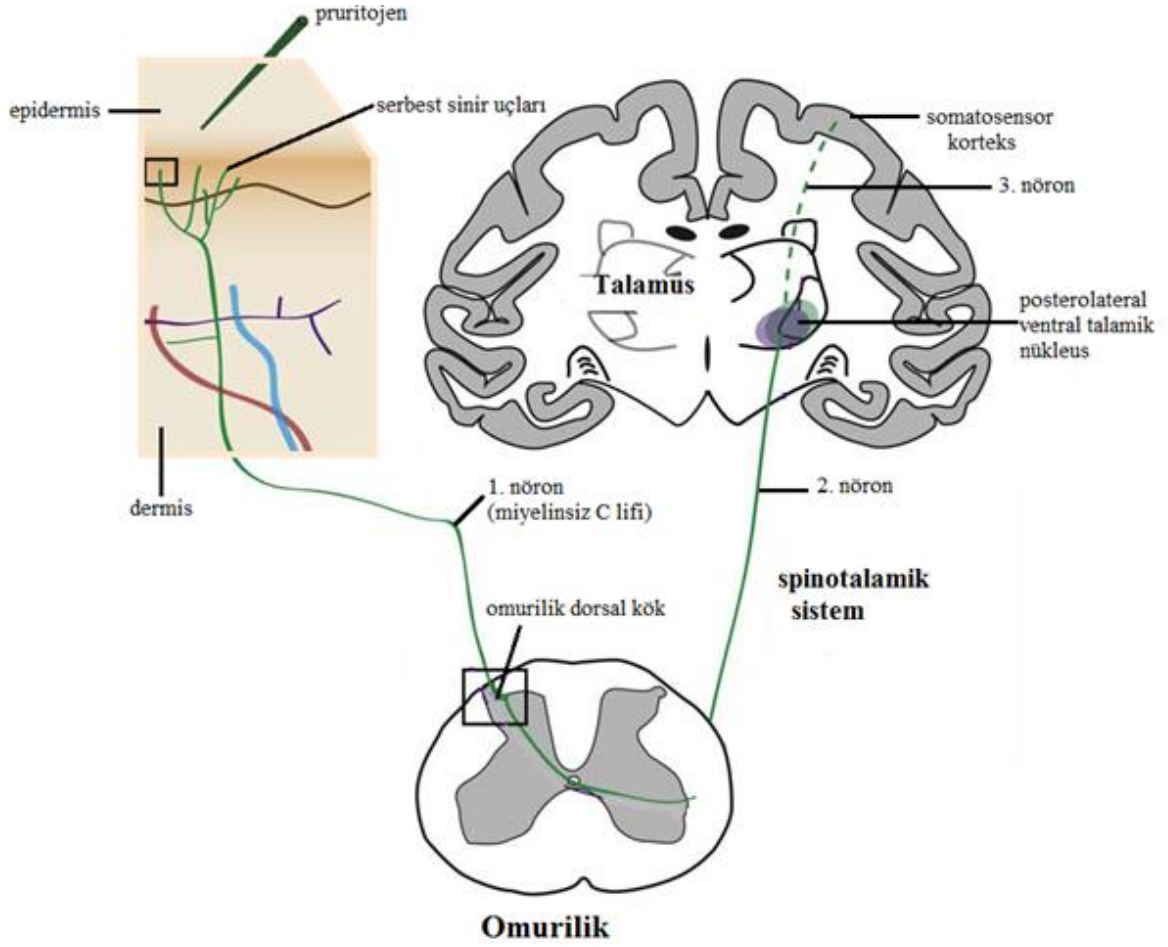
Atopik dermatit de pruritus C lifleri aracılığıyla gerçekleştiği için pruriseptif kaşıntıya örnektir, fakat hem opioidler tarafından modüle edilebildiği için nörojenik pruritusa da girer hem de psikojenik içerik gösterdiği için psikojenik pruritusa dahil olur (19).

KAŞINTININ İLETİM TEORİLERİ

Sinir sisteminde pruriseptif duyu iletimini açıklamak için iki teori öne sürülmektedir: özgüllük teorisi ve impuls kalıbı (pattern) teorisi. Kaşıntının özgüllük teorisinde duyuşal sinir liflerinin spesifik alt tipleri vardır ve omurilikte santral sinir sistemine bilgi gönderen kaşıntıya spesifik nöronlar bulunur. İmpuls kalıbı teorisinde ise kaşıntıya spesifik nöronların bulunmadığı diğer duyuşal nöronların zayıf bir şekilde uyarılması ile kaşıntı oluştuğu öne sürülmektedir (21).

KAŞINTININ ALGILANMASI

Bir pruritojen tarafından özellikle derinin üst tabakasında (epidermis) yayılmış olan C liflerinin serbest sinir uçlarının aktivasyonu ile oluşan uyarı C lifleri aracılığıyla omuriliğin dorsal köküne ulaştırılır. Burada kontralateral spinotalamik yolağa katılacak olan ikinci duyuşal nörona iletilir. İkinci duyuşal nöron tarafından talamusa ulaştırılan uyarı buradan çıkan üçüncü duyuşal nöronla somatosensoriyel kortekse aktarılır ve burada kaşıntı olarak yorumlanır (Şekil 1) (23).



Şekil 1. Kaşıntının nöral iletimi (Andoh ve ark. (14)'den uyarlanmıştır).

Primer Afferent Sinirler

Derideki duyuşal sinir lifleri hız durumları ve duyuşal modalitelerine göre 3 grupta kategorize edilir; hızlı iletim yapan miyelinli sinir lifleri ($A\beta$), yavaş iletim yapan miyelinli sinir lifleri ($A\delta$) ve miyelinli sinir lifleri (C) (18,26). $A\beta$ derinin zararsız mekanik uyarılarına cevap verirken, $A\delta$ ya da C sinir lifleri derideki zararlı uyarılara ya da sıcaklık değişimlerine cevap verir (26). $A\delta$ ve C sinirleri ısı ve ağrı/kaşıntının iletilmesinde başlıca rol alırken, $A\beta$ dokunma ile ilgili duyuşları iletir. Deri yüzeyinden kaynaklanan ağrı duyuşunun 2 farklı alt tipi vardır. Bunlardan ilki saplanıcı ve ikincisi yanıcı ağrıdır ve ilkinden sonra diğeri algılanır. $A\delta$ sinirleri tarafından iletilen ilk ağrı saplama şeklinde tanımlanırken, C sinirleri tarafından iletilen yanıcı tarzda tanımlanır. Kaşıntı ağrıyla ileten C sinirlerinin zayıf aktivasyonu ile meydana geldiğinde batıcı ağrıdan daha çok yanıcı ağrıya benzer (18).

Schmelz ve ark. (27) mekanik olarak dayanıklı olmayan (CMi), aşırı yavaş iletilen ve deriye histamin uygulayarak uyarılan C liflerinin bir sınıfının varlığını kanıtlamışlardır.

Histamine mekanik olarak dayanıklı olmayan C liflerinin cevapları insan deneklerinde simultane kaşıntı duyusuna benzerdir (20,21). C lifleri uyarılmalarına neden olan uyaranlara göre sınıflandırılır. Schmelz ve ark. (27) histaminin C liflerini aktive ettiğini farketmişlerdir. Ayrıca, histaminle uyarılma süresi kaşıntı süresiyle de eşleşir. Histamine duyarlı C lifleri C liflerinin çoğundan daha yavaş hızla iletim yapmıştır, ve ısı ya da mekanik güçler tarafından uyarılmamıştır ve ısı ve mekaniğe duyarsız C liflerinin bir alt sınıfı olarak sınıflandırılmıştır (21).

Kapsaisin geçici reseptör potansiyeli, vanilloid 1 (TRPV1) ve kapsaisin, C liflerinin bir alt sınıfında eksprese edilir. Kapsaisinle uyarılma sadece yanıcı ağrı uyarılmasını etkilemez, aynı zamanda histamin verilerek uyarılan kaşıntı duyusunu da engeller. Klinik olarak kapsaisin kaynaklı duyarsızlaştırmanın pruritik sedef ve hemodiyalizle ilişkili patolojik kaşıntıyı düzelttiği bulunmuştur (21).

Derideki duyuşal sinir lifleri çalışmalarında kullanılan bir diğerk pruritojen *Mucuna pruriens* yani kadife fasulyenin kabuğundan elde edilen spiküllerdir. Histamin kaynaklı kaşıntının aksine insan derisine kadife fasulyenin uygulamasından sonra uyarılan kaşıntı histamin H1 reseptör antagonisti tarafından inhibe edilemez (28,29). Histamin gibi kadife fasulyenin de kutanöz C liflerini etkili bir şekilde uyardığı bulunmuştur. Ancak histaminin aksine kadife fasulye ile uyarılan insan derisindeki C liflerinin alt tipi mekanik olarak duyarlı olan C lifleridir (30). Benzer şekilde insan olmayan primat kutanöz sinir liflerinden alınan elektrofizyolojik veriler kadife fasulye ile beraber mekanik olarak duyarlı C liflerinin öncelikli uyarıldığını göstermiştir. Aslında CMI kadife fasulye tarafından uyarılmaz (29). Sonuç olarak hem histamin hem de kadife fasulye kaşıntı duyusunu uyarır (21).

Araştırmacılar bir diğerk pruritojen olan klorokini farede kaşıntı transdüksiyonundan sorumlu afferent sinir fenotiplerinin belirlenmesi sırasında kullanmıştır. Klorokin insanlarda potansiyel bir yan etki olarak kaşıntıyı uyardığı bilinen antimalaryal bir ilaçtır (21). Kaşıntıya neden olan klorokine aracılık eden G protein kenetli reseptörler (GPCR) kemirgenlerin periferik duyuşal nöronlarında tanımlanmıştır. Bu nöronlar histamin, kapsaisin ve gastrin salıverici peptid (GRP) gibi kaşıntıya neden olan sinyallere cevap verir (19). Farede klorokin verilerek oluşturulan kaşıntının mekanizmasına bakıldığında, MrgA3 adlı bir GPCR ile klorokinin sekonder bir etkileşim yaptığı bulunmuştur (31). MrgA3 eksprese eden duyuşal nöronların gelişiminde C liflerinin de olduğu açığı çıkmıştır. MrgA3 eksprese eden dorsal kök gangliyon (DKG) nöronları aynı zamanda histamin (H1) ve kapsaisin (TRPV1) reseptörlerini de eksprese eder (21).

Omurilik

Kemirgenlerde yapılan çalışmalar sonucu omurilikte dorsal kökün yüzeyel tabakası aracılığıyla beyine iletilen nöral kaşıntı yolaklarının varlığı tespit edilmiş, ayrıca dorsal kök nöronlarının pruritojenlere hassas olduğu gösterilmiştir (18). Kaşıntı üreten uyarılarla beraber DKG nöronlarının periferik duysal sinir sonlarının aktivasyonundan sonra bu nöronların santral sinir uçları omuriliğin arka kökünde bulunan nöronlarla sinaps yapar. İnsan omuriliğinin anterolateralindeki lezyonlar lezyon seviyesinin altında kontrollü olarak kaşıntı duysunu baskılar. Kaşıntı duysusu kaybı ağrı ve sıcaklık duysusu gibi spinal talamik yolda (STY) omuriliğın anterolateral yüzü aracılığıyla beyine iletilir (21).

İnsan olmayan primatların elektrofizyolojik çalışmaları deriye histamin veya kadife fasulye uygulanmasıyla meydana gelen kaşıntının STY aracılığıyla iletildiğini göstermiştir (32,33). Diğer bir ifadeyle histamin ve kadife fasulye primer afferent sinirlerin farklı alt tiplerinin sinir uçlarını uyarmasına rağmen her iki mediyatörün de uyardığı alt tipler STY’de yer alan nöronlarla omuriliğın arka kökünde sinaps yapar (21).

Omuriliğın dorsal kökü üzerine yapılan son yıllardaki çalışmalar sonucu yüzeyel dorsal kök içerisinde bulunan nöronlar üzerinde gastrin salıverici peptid reseptörlerinin (GRPR) rolü tanımlanmıştır (20). Bu reseptörü bulunmayan fareler üzerine yapılan çalışmalarda çeşitli pruritik ajanlar tarafından meydana getirilen kaşıntıda azalma görülmüştür, ancak aynı fareler ağrı duysusu testlerine normal cevap vermiştir. Bu sonuçlar doğrultusunda spinal GRPR antagonize edilerek ağrı duysusu etkilenmeksizin kaşıntıyı bloke eden yeni bir farmakolojik yaklaşım önerilmektedir (34).

Bir çalışmada intratekal (i.t.) bombesin-saporin verilerek farenin omuriliğında GRPR⁺ nöronlarının ablasyonu yapılmış. GRPR⁺ nöronları ablasyonu yapılmış farelerin çeşitli pruritojenlere gösterilen kaşıntı davranışlarını daha az sergiledikleri görülmüştür (34). Ayrıca bu bulgular GRPR⁺ dorsal kök nöronları üzerinde kaşıntıya spesifik tanımlanmamış reseptörler olabileceğini düşündürmüştür. Dolayısıyla GRPR⁺ nöronlarının kaşıntıda önemli bir rol oynadığı şüphesizdir (20).

Beyin

İnsanlarda yapılan çalışmalarda ise beyinin somatosensoriyal alanlarında kaşıntı üreten uyarılar gösterilmiştir. İnsanlarda deriye histamin verildikten sonra primer duysal korteks, primer motor korteks, ek motor alan ve premotor korteksin aktivasyonu gösterilmiştir (35).

Kaşıntının supraspinal ilerlemesi ve kaşıntı oluşumuna verilen cevap fonksiyonel pozitron emisyon tomografisi (PET) kullanılarak araştırılmıştır. Histaminin i.d. enjeksiyonu sonucu kaşıntının induksiyonu anterior singulat korteks, ek motor alan, inferior pariyetal lob ve sol hemisferin ortak aktivasyonu sonucu meydana gelir. Kaşıntı induksiyonundan sonra beyinde pek çok bölgenin aktivasyonu tek bir kaşıntı merkezi olmadığını ve kaşıntı duyusunun çok boyutlu olduğunu ortaya çıkarmıştır (22).

Ağrı duyusuyla ilgili talamusun rolü iyi bilinir, ancak kaşıntı modülasyonundaki rolüyle ilgili veriler ağrı duyusunda olanla aynı değildir. PET tekniği kullanılarak yapılan çalışmalarda frontal pariyetal ve singulat korteks gibi çeşitli kortikal alanlarda kaşıntı sürecinin işleyişi gösterilmiştir. Korteksten talamusa iki muhtemel yolak olabilir. Talamustaki ventral medial nükleustan sensorimotor korteks 3a bölgesinde sonlanırken, talamustaki medial dorsal nükleustaki nöronlar anterior singulat kortekste sonlanır. Bu her iki kortikal bölge histamin kaynaklı kaşıntı ve kaşınma sürecinde aktive olmaktadır (36).

KAŞINTININ BİYOLOJİK MEDİYATÖRLERİ VE RESEPTÖRLERİ

Pek çok madde ve inflamatuvar mediyatörlerin fare, sıçan gibi hayvanlar, insan olmayan primatlar ve insanlarda deneysel olarak kaşıntıyı uyardığı gösterilmiştir. İnsanlarda kaşıntı duyusu psikofiziksel deneyler süresince ölçülür. Hayvanlarda kaşıntı davranışları deneysel kaşıntı ölçümleri olarak kullanılır ve ölçülür. Çalışmaların büyük çoğunluğu bu yöntemlerden elde edilen verilere dayanır. Nadiren insanlarda kaşıntıyı uyaran bir madde deney hayvanlarında kaşıntı davranışını uyarmaz (21).

Histamin

Pruritojenik maddeler arasında histamin hem hayvanlarda hem de insanlarda en iyi bilinen ve en yaygın kullanılan temel mediyatörlerden biridir (2,3,18,21). Histaminergic yolak en iyi çalışılan pruritojenik yolaktır; kolaylıkla deneysel olarak düzenlenebilir ve doku hasarı, alerji ve infeksiyon ile doğal olarak meydana getirilebilir (20). Histamin çeşitli inflamatuvar koşullar altında aktive olarak dermal mast hücrelerinden salınır (3,18,21,37). Histaminin i.d. enjeksiyonu ise ağrı duyusu oluşturmaksızın kaşıntıya neden olur (21). Histamin kaynaklı kaşıntıdan sorumlu nöronlar C lifleri ve spinotalamik sistemde tanımlanmıştır ve bu tip nöronlar mekanik olarak duyarlı nöronlardır (2). Bu güne kadar dört histamin reseptörü tanımlanmış ve izole edilmiştir: H1, H2, H3 ve H4 (2,18,20,38). Tanımlanmış olan tüm histamin reseptörleri yedi transmembranel segmentli GPCR'dir (20). Kaşıntı uyarılmasından

sorumlu primer histamin reseptör alt tipi H1 reseptörleri olarak gösterilir (2,18,21). H1 blokörleri ürtiker gibi pruritik hastalıkların bazı alt tiplerinde kaşıntıyı etkili şekilde inhibe eder (2). DKG nöronları üzerindeki H1 reseptör aktivasyonu fosfolipaz c aracılığıyla intraselüler kalsiyumu arttırır ve Gaq G proteinlerinin aktivasyonuna yol açar (39). H1 reseptör aktivasyonu ile sekonder DKG nöronlarındaki iyon akımı TRPV1 aktivasyonuna yol açar (40). Bu gözlemler tutarlı olarak histaminle uyarılmış kaşıntı davranışı TRPV1 reseptör antagonistleri ile ön tedavi yapılarak zayıflatılır (39). Bu gözlemler TRPV1 reseptörlerinin insanda bulunan histamin reseptör sinyalizasyonunda rol oynadığını gösterir. H2 reseptörleri ise insanlarda kaşıntı oluşumuna minimum bir katkı sağlar (21). Ancak farelerde H2 reseptörlerinin aracılık ettiği kaşıntıyla ilgili çalışmalar da vardır (41). H3 reseptör antagonistlerinin i.d. enjeksiyonu ise diğer reseptörlerden farklı olarak farede kaşıntı davranışını arttırırken, H3 reseptör agonistleri ise kaşıntıyı azaltır (3,42,43). H4 reseptör agonistinin i.d. enjeksiyonu da kaşıntı oluşumuna neden olmaktadır. H4 reseptör antagonistinin sistemik uygulaması ise farelerde alerjik dermatit ve pasif kutanöz anafilaksi tarafından neden olunan kaşıntıyı azaltır (3).

Serotonin

Serotonin (5-hidroksitriptamin, 5-HT) gastrointestinal sistem ve sinir sisteminde bulunan en yaygın nörotransmitterlerden biridir (2). 5-HT insanlarda kaşıntıyı uyardığı görülen bir endojen biyojenik amindir. Deride 5-HT yedi familya (5-HT1-7) ve yaklaşık 21 alt tip ile karakterize edilen membrana bağlı reseptörler ile etkileşime girerek vazodilatasyon, immünmodülasyon ve purinitojen etkiler gösterir (17). 5-HT insan derisinde zayıf pruritojen olmasına rağmen kemirgenlerde 5-HT'nin i.d. uygulaması periferde 5-HT2 reseptörlerinin aracılık ettiği kaşıntı davranışına neden olur (44). Sıçanlarda 5-HT2'nin yaptığı kaşıntı davranışı C liflerinin aktivasyonu ile ilişkilidir (15). Sıçanlarda ve farelerde 5-HT'nin i.d. enjeksiyonu zararlı uyarana cevap olarak yüzeysel dorsal kök nöronlarının uzun süreli aktivasyonuna neden olur (45). 5-HT reseptörlerinin santral seviyede kaşıntıda rol oynadığı da bildirilmiştir. Morfin sıçanlarda konsantrasyona bağımlı olarak 5-HT3 reseptörlerini antagonize etmesine rağmen, klinik çalışmalar 5-HT3 reseptör antagonisti olan ondansetronun sistemik uygulamasının opioid kaynaklı kaşıntıyı azalttığını açığa çıkarmıştır. 5-HT3 reseptör antagonistlerinin antipruritik etkileri kolestatik ve renal pruritusta da etkilidir (2). Ayrıca spinal 5-HT7, μ -opioid reseptörü (MOR) üzerine etki eden bir diğer ilaç olan morfin ve tramadolun antinosiseptif etkileriyle ilişkilidir (11). 5-HT reseptörlerinin diğer alt tipleri

üzerine etki eden ilaçların antipruritik etkileri çalışılmaya devam etmektedir (2). İnsanlarda 5-HT kaynaklı kaşıntı ile ilişkili reseptör alt tipleri çalışılmamıştır. Ancak insan derisinde polisitemi vera ile ilişkili kaşıntının 5-HT ile ilişkili olduğu bilinmektedir (15) ve 5-HT₂ reseptör antagonisti pizotigen ile inhibe edilebilir (21).

Opioidler

Kaşıntı indüksiyonunda rol oynayan başka bir mekanizma da opioidlerdir. Opioid reseptörleri epidermiste ve kaşıntı oluşumunun tetiklenmesinde önemli bir etkisi olan kutanöz duysal sinir lifleri üzerinde bulunur (19). Endorfin, enkefalin, dinorfin ve endomorfın gibi endojen opioid peptidler hormon ve immünomodülatör olarak görev yapmanın yanı sıra nöromedyatörler olarak da iş yapar. Bu endojen opioid peptidler κ , μ ve γ reseptörlerinin aktivasyonu aracılığıyla etki gösterirler (2). Opioid analjeziklerin olumsuz yan etkilerine MOR antagonistleri tarafından hafifletilen kaşıntı da dahildir (46). μ -reseptörlerinin aktivasyonu kaşıntıya neden olurken, κ -reseptörlerinin uyarılması kaşıntıyı inhibe eder (22). MOR antagonistleri dermatolojik ve sistemik hastalıklarda kaşıntının tedavisinde kullanılmıştır (47). Seçici bir opioid κ -reseptör agonisti nalfurafin Japonya'da kronik üremik kaşıntının tedavisi için uygulanmıştır (48). Bu yüzden, opioid μ ve κ reseptörleri kaşıntı için potansiyel tedavi hedefidir (3). Opioid reseptörler hem periferik hem de santral sinir sisteminde bulunmalarına rağmen ağrı ve kaşıntı oluşumundaki yollar santral sinir sisteminde bulunur. Morfin en iyi bilinen MOR agonistidir ve analjezik olarak yüzyıllardır kullanılmaktadır. Morfinin epidural ya da spinal verilmesi segmental kaşıntıya neden olur. Morfinin i.d. verilmesi mast hücre degranülasyonuna neden olur ve plazma histamin seviyelerini intravenöz (i.v.) verildikten sonra yükseltir (2). Morfinin intrasisternal injeksiyonu ile oluşan analjezi MOR antagonisti tarafından antagonize edilebilirken, intrasisternal morfinin neden olduğu kaşıntı antagonize edilemez (49).

Kannabinoidler kaşıntının baskılanması ya da oluşmasında etkili olan opioid sistem ile ilişkilidir. Kannabinoidlerin psikotropik etkilerinin yanı sıra ağrı ve kaşıntıyı hafifletme etkilerinin olduğu da bilinmektedir. Kannabinoidler santral ve periferik sinir sisteminde özel reseptörlere bağlanır. Sinir hücreleri ve epidermal keratinositler endojen kannabinoidlerin salınmasına neden olur. Kannabinoidlerin topikal uygulaması kaşıntının azalmasına yardımcı olabilir (19).

Asetilkolin

Asetilkolinin i.d. injeksiyonu insanlarda kaşıntıyı uyarır, fakat 5-HT gibi histaminden daha az pruritojendir (27). Asetilkolin aynı zamanda ağrı duyusunu da uyarabilir. Örneğin; sağlıklı gönüllülere devamlı asetilkolin injeksiyonu ağrı duyusunu uyarırken, atopik dermatitli deneklerin cildine asetilkolin injeksiyonu kaşıntı yapmıştır. Asetilkolin tarafından uyarılan kaşıntı davranışı muskarinik M3 reseptör antagonistleri tarafından bloke edilebilir. İlginç bir şekilde atopik dermatitli hastalarda normal sağlıklı kontrollerle kıyaslandığında derideki asetilkolinin konsantrasyonu 10 kat daha yüksek bulunmuştur (21).

P maddesi

P maddesi kutanöz nosiseptif sinir uçlarında yoğun olarak bulunan taşıkinin familyasına ait bir nöropeptiddir. Bilinen üç taşıkinin reseptörü vardır; nörokinin-1, -2 ve -3. Nörokinin-1 reseptörü (NK1R) P maddesine yüksek afinite gösterir ve periferik ve santral sinir sisteminde oldukça yoğun eksprese edilir (2). P maddesi özellikle alerjik inflamasyonla ilgilidir ve insan derisindeki mast hücrelerinde bulunur (21). İnsanlara P maddesinin kutanöz verilmesi normal sağlıklı bireylerde ve atopik dermatitli hastalarda kaşıntıyı uyarır (50). Farmakolojik çalışmalar, P maddesi tarafından uyarılan kaşıntıda sekonder lökotrien B4 (LTB4) üretiminin arttığını göstermiştir (51).

Lökotrienler

Sisteinil lökotrienler ve LTB4'ün i.d. injeksiyonu bireylerin bir kısmında kaşıntıyla beraber lokal inflamatuvar reaksiyonlara neden olur (19,21). LTB4'ün i.d. injeksiyonu farede kaşıntı davranışını uyarır ve oluşan kaşıntı LTB4 reseptör antagonistleri tarafından inhibe edilebilir (52). İki LTB4 reseptör alt tipi vardır, LTB4'e yüksek afiniteyle bağlanan BLT1 ve düşük afiniteyle bağlanan BLT2. LTB4 üretimi epidermiste lokalize olduğunda primer afferentler üzerinde BLT1 reseptörü LTB4 aracılı kaşıntıya neden olabilir (3).

Bradikinin

Bradikinin reseptörleri bir GPCR familyası üzerine etki ederek biyolojik aktive gösteren iki alt tipten oluşur: B1 ve B2. Lezyonlu deriye bradikinin uygulaması ağrının azalmasına, kaşıntı duyusunun ise artmasına neden olur (50).

Proteazlar

Tripsin ve triptaz gibi endojen serin proteazları insanlarda ve hayvanlarda kaşıntı meydana getirir (53). Kaşıntı proteinaz ile aktive edilen reseptörler (PAR) gibi histaminerjik olmayan reseptörlerin aktivasyonu ile meydana gelebilir (20). Bu güne kadar PAR familyasına ait dört reseptör (PAR1-4) tanımlanmıştır ve her biri 7-transmembranel segmentli GPCR'dir (54). PAR-2 histaminerjik olmayan pruritik mediyatörlerin en önemlisi olarak belirtilmiştir (20). Proteinazların pruritojenik mekanizmaları PAR2'nin aktivasyonunu, mast hücrelerinin degranülasyonunu ve pruritojenik peptidlerin üretimini kapsar. İnsanlarda ve deney hayvanlarında selektif PAR2 agonistlerinin uygulanması kaşıntıyı uyarır (55). PAR2 proteinaz reseptörü atopik dermatit, ürtiker, dermatofit infeksiyonunda kaşıntı ve kaşınmadan sorumludur. Dolayısıyla, proteinaz reseptörü PAR2 pruritik hastalıklar için potansiyel terapötik hedefler arasındadır (3).

Sitokinler

Pruriseptif kaşıntıya neden olan potansiyel mediyatörlerden biri de tip 2 helper (Th2) sitokin interlökin-31'dir (IL-31) (56). IL-31 duyuşal sinir uçlarını uyararak kaşıntı oluşumuna neden olur (21). Şimdiye kadar yapılan çalışmalarda IL-31'in atopik dermatit ve prurigo nodularis gibi pruritik deri hastalığı bulunan kişilerin derisinde yüksek oranda bulunduğu kaydedilmiştir (57). IL-31'in fare derisine verilmesi kaşıntı davranışını artırırken, anti-IL-31 aracılığıyla IL-31 blokajı farede kaşıntı davranışını azaltır.

Lizofosfatidik Asit

Lizofosfatidik asit (LPA) farede kaşıntı oluşmasına aracılık eden fosfolipid türevli mediyatördür. LPA ile uyarılan kaşıntı davranışının mekanizması bilinmemesine rağmen H1 reseptör antagonizması ve kapsaisin ön tedavisinin kaşıntı davranışını zayıflattığı bilinmektedir (21).

Toll Benzeri Reseptör-7

Toll benzeri reseptör 7 (TLR7) farede kaşıntı davranışını uyarın mediyatörlerden bir tanesidir. TLR7 tek sarmallı virüs RNA'sını tanımak için bağışıklık sistemi tarafından kullanılmasının yanı sıra, TLR7'nin genetik eksikliği kaşıntıyı azaltır. Klorokin, PAR2 agonistleri ve 5-HT aracılığıyla uyarılan kaşıntı TLR7 olmayan farelerde daha azdır. TLR7

agonistlerinin direkt olarak uygulanması DKG nöronlarını ve DKG nöronları üzerinde bulunan TLR7 reseptörlerini uyarır (58).

Gastrin Salıverici Peptid Reseptörleri (GRP)

Bombesin benzeri bir peptid olan GRP ve bombesin reseptörü-2 (BB2) SSS'de ve gastrointestinal yolakta oldukça fazla bulunur (59). BB2 mutant fareler mekanik ve termal uyarınları ağrı olarak algılar, ancak 48/80, klorokin ya da PAR2 uygulandığında kaşıntı davranışında azalma görülür. BB2 antagonistlerinin i.t. verilmesi yabancı tip farelerde bu pruritojenler tarafından neden olunan kaşıntı davranışını azaltır (2,3). 48/80, klorokin ve PAR2 ile azaltılan kaşıntı davranışı kaşıntı indüksiyonunda GRP ve BB2'nin rol oynadığını gösterir (3).

Glutamat Reseptörü

Glutamat omurilikteki temel uyarıcı nörotransmitterlerden biridir ve N-metil-D-aspartat (NMDA), α -amino-3-hidroksi-5-metil-4-izoksazolepropiyonik asit (AMPA) ve 5 kainat reseptörleri gibi glutamat reseptörlerine bağlanarak etki gösterir. NMDA reseptörleri santral sensitizasyonla ilişkilidir. Ağrı ve kaşıntı yollarındaki sensitizasyonda NMDA reseptörleri önemli rol oynadığından, bu reseptör antagonistleri kaşıntı inhibisyonu için etkili olabilirler (2).

Kanallar

TRPV1 kanallarında bulunan primer duyu nöronları kaşıntı sinyalinde önemli rol oynar. H1 reseptörünün histamini uarması fosfolipaz A2 (PLA2), 12 lipoksijenaz ve fosfolipaz C β sinyal sistemi aracılığıyla TRPV1 akımı üretir. Benzer şekilde, PAR2 reseptörünün proteinaz stimülasyonu fosfolipaz C-protein kinaz C yolağı aracılığıyla TRPV1 akımı oluşturur. Dolayısıyla TRPV1 kanalının blokajı pruritik hastaların geniş bir spektrumunda kaşıntıyı hafifletebilir. Ancak TRPV1 kanalı pruritik hastalar için yeterli bir terapötik hedef olmayabilir. TRPV3 kanalı kuru deri sonucu oluşan kaşıntı için potansiyel bir tedavi hedefi olabilir. TRPA1 kanalları TRPV1 pozitif duyu nöronlarının bir alt kümesi olarak ifade edilir. TRPA1 kanalının da kaşıntı sinyalinde ilişkili bir kanal olduğu gösterilmiştir. TRPA1 kanalı kaşıntı için hedef gibi görünmesine rağmen patolojik kaşıntıyla ilişkili olup olmadığı tam olarak anlaşılamamıştır (3).

KAŞINTI VE AĞRI ARASINDAKİ İLİŞKİ

Kaşıntı ve ağrı arasında bazı benzerlikler vardır; her ikisi de istenmeyen duygulardır ve histamin gibi pruritojenlerin çoğu aynı zamanda ağrıya da neden olabilir. Bu iki tip uyarı da sıçanlarda ya da farelerde davranış yanıtı oluşturur, ancak bazı farklar vardır. Kaşıntı uyarını kaşınma hissinden ya da buna neden olan bazı bitlerden kaçınmak için ortaya çıkarken; zararlı uyarandan kaçınmak ise geri çekilme refleksi, korkma ya da yalama şeklinde ortaya çıkar (15). Kaşıntı araştırmalarındaki ilerlemeler kaşıntı ve ağrı arasındaki farklılıkları aydınlatamamıştır. Kaşıntı ve ağrı, nosiseptif ve pruriseptif uyarıların her biri farklı davranışsal tepkiler açığa çıkardığı için bağımsız duyarlar gibi görünür. Kaşıntı, genellikle ağrı ile ters ilişkili gibi görünür, çünkü kaşıntı nosiseptif uyarılarla (kaşınma) azaltılır ve analjezik opioidler genellikle yan etki olarak kaşıntı meydana getirir. Ancak kaşıntı ve ağrı aynı zamanda oldukça da benzerdir: Kaşıntı açığa çıkaran ajanlar nosiseptif primer afferent liflerini aktive eder ve eşzamanlı pruritik ve nosiseptif duyarlar üretir. Ayrıca, omuriliğin anterolateral funikulusunun cerrahi lezyonu kronik ağrıyı azaltır, kaşıntıyı da ortadan kaldırır; ağrıya konjenital duyarsızlığı olan bireyler kaşıntıya da duyarsızdır. Bu da gösteriyor ki, kaşıntı duyusundan sorumlu nöral anatomi ağrı ile de açıkça benzerdir (20).

Omuriliğin dorsal kökü üzerine yapılan son yıllardaki çalışmalar sonucu yüzeysel dorsal kök içerisinde bulunan nöronlar üzerinde GRPR'nin rolü tanımlanmıştır. Bu reseptörü bulunmayan fareler üzerine yapılan çalışmalarda çeşitli pruritik ajanlar tarafından meydana getirilen kaşınıta azalma görülmüştür, ancak aynı fareler ağrı duyusu testlerine normal cevap vermiştir. Bu sonuçlar doğrultusunda spinal GRPR antagonize edilerek ağrı duyusu etkilenmeksizin kaşıntıyı bloke eden yeni bir farmakolojik yaklaşım önerilmektedir (10).

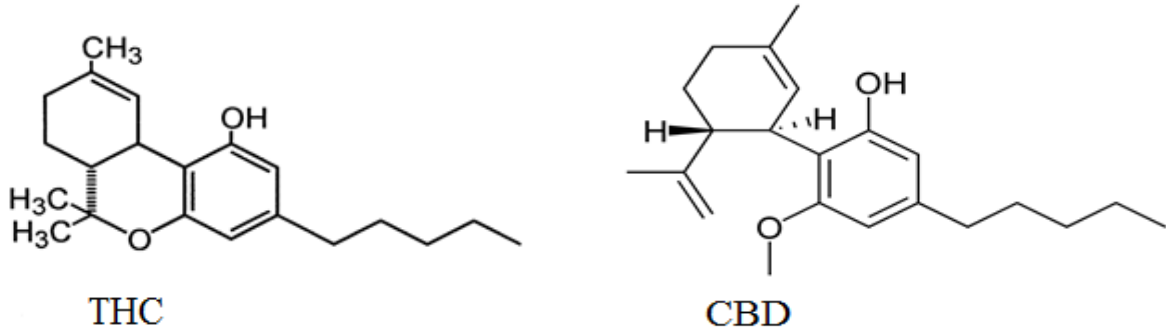
Kaşıntı oluşumunda ilgili beyin bölgesinin aktivasyon şekli ağrı duyusuna oldukça benzerdir; aslında aktive olan beyin bölgeleri kaşıntı ve ağrı için aynıdır (12). Ancak ağrı ve kaşıntı arasında aktivasyon şeklinde küçük farklar vardır, örneğin kaşınıta beyinin parietal bölgesi üzerinde talamik ve somatosensor korteksin aktivasyonu tam olarak belirlenmemektedir (22).

Ağrının hafifletilmesi için kullanılan opioidler kaşıntının giderilmesi için de kullanılmaktadır (15). Hastalara spinal olarak μ opioid reseptör agonistlerinin verilmesi kaşıntı meydana getirirken μ opioid antagonistleri deneysel olarak meydana getirilen kaşıntıyı baskılar. Ancak tüm opioidler kaşıntıyı uyarmaz, örneğin κ opioid agonisti nalbufinin μ opioid kaynaklı kaşıntıyı azalttığı görülmüştür ve κ opioid antagonistleri μ opioid antagonistlerinin etkilerinin aksine kaşıntı oluşumuna neden olur. Ağrı duyusu

baskılandığında kaşıntı artabilir ve ağrının baskılanması kaşıntı ve ağrı duyusunun arasında fizyolojik bir ilişki olduğu kanıtını güçlendirir (38).

KANNABİNOİDLER

Kannabinoidler cannabinoid reseptörleri aracılığıyla etki gösteren bir grup kimyasal bileşiklerdir. Bu bileşiklere cannabis bitkisinde doğal olarak bulunan fitokannabinoidler, sentetik cannabinoidler ve endojen cannabinoidler dahildir (60,61). Marihuana olarak da bilinen cannabis asırlardır rekreasyonel ve medikal amaçlar için kullanılmıştır. Medikal amaçları arasında ağrı yönetimi de girer, ve cannabinoid reseptörleri, endojen ligandlar ve endokannabinoidlerin keşfinden sonra yoğun dikkat çekmiştir. Δ^9 -tetrahidrokannabinol (THC) ve cannabidiol (CBD) cannabis bitkisinin önemli bileşenleridir ve sentetik cannabinoidler ve onların analogları hem klinik öncesi hem de klinik çalışmalarda güçlü analjezik etkiler gösterir (Şekil 2) (60-63). Sentetik bir THC olan dronabinol ve sentetik analogu nabilon son yıllarda kullanılan sentetik cannabinoidlerdir. Dronabinol ve nabilon uzun yıllardır Kanada ve Amerika'da kemoterapiyle ilişkili emeziste kullanım için onaylanmıştır. Ayrıca nabilon AIDS ile ilişkili kilo kaybı için de kullanılmaktadır (60).



Şekil 2. THC ve CBD'nin kimyasal yapısı

Kannabinoid Reseptörleri ve Kannabinoidlerin Etki Alanı

Günümüze kadar cannabinoid reseptörlerinin iki alt tipi tanımlanmıştır; cannabinoid-1 (CB1) ve cannabinoid-2 (CB2) reseptörleri (60,63). CB1 reseptörleri SSS'de oldukça yoğun bulunur. Genellikle nöronların akson ve terminalleri üzerinde presinaptik olarak yer alır ve adenilat siklazı inhibe ederek nörotransmitterlerin salınımına aracılık eder. CB2 reseptörleri ise immün fonksiyonlarla ilişkili periferik dokularda bulunur. Bu reseptör tipi de adenilat

siklazı inhibe eden ve hücrel inhibisyon yapan G proteini ile kenetli bir reseptördür (60,64,65).

1992'de endojen kannabinoid reseptör agonistleri olan iki endokannabinoid, anandamid (araşidonil etanolamid) ve 2-araşidonil gliserol keşfedilmiştir (63). CB1 ve CB2 kannabinoid reseptörleri anandamidin (AEA) temel moleküler hedefidir ve farklı sinyal yollarını aktive ederek bu lipidlerin biyolojik aktivitelerine aracılık eder (65). Anandamidin adenilat siklaz bağımlı G-proteini inhibisyonu aracılığıyla CB1 reseptörlerinde THC'ye benzer etkiler ürettiği bildirilmiştir (61).

CB1 reseptör agonistlerinin kronik ağrı ve multipl skleroz spastisitesi gibi durumların kontrolünde etkili olduğu bilinmektedir. Ancak insan kapsaisin ağrı modelinde CB1/CB2 reseptör agonistlerinin periferik etkileri açık değildir. Selektif CB2 reseptör agonistleri klinik denemelerde başarılı bulunmuş, fakat immün depresyon gibi istenmeyen etkiler ortaya çıkmıştır. Bu nedenle kannabinoidlerin diğer analjeziklerle kombine edilerek kullanılmasının bu etkilerin azaltılmasında faydalı olabileceği önerilmektedir. Ağrı durumunda endokannabinoidler ağrı iletimi ve modülasyonunda görev alan SSS yapılarında sentez ve metabolize edilir. Bu nedenle bu yapılara endokannabinoid takviyesi CB reseptörlerini etkiler (60).

Fitokannabinoidler, sentetik kannabinoidler ve endokannabinoidler supraspinal, spinal ve periferik seviyelerde bulunan CB1 reseptörleri aracılığıyla antinosiseptif etki meydana getirirler. İntrinsik nöronlar ve afferent supraspinal nöronların terminalleri üzerinde bulunan CB1 reseptörlerinin ve presinaptik afferent terminallerin spinal seviyede antinosiseptif etkiye aracılık ettiği düşünülmektedir (60).

Endojen kannabinoid sistem keşfedildiğinden beri kannabinoidlerin çeşitli fizyolojik aktivelere sahip oldukları kanıtlanmıştır (63). Anandamid kannabinoid reseptörleri ve siklik-AMP dinamikleri ve Ca^{++} ve K^{+} iyonlarının transportu üzerine etki ederek nöronal aktiviteyi düzenler. Bu ligand reseptör etkileşimlerinin fizyolojik etkileri tam olarak anlaşılammış olmasına rağmen opioidler, GABAerjik, serotonerjik, noradrenerjik, dopaminerjik, kolinerjik, glukokortikoid ve prostoglandin sistemleri ile bağlantılı olduğu belirtilmektedir (66).

İNİCİ İNHİBİTÖR SİSTEM

Ağrı duyusunun iletiminin ağırlıklı olarak inisi noradrenalin (NA), 5-HT ve endorfin, dinorfin gibi endojen opioidler aracılığıyla, endojen ağrı inhibitör sistemi tarafından düzenlendiği bilinmektedir (4,67). İnci sistemlerin aktivasyonu primer afferent ya da

internöronlardan glutamat, γ -aminobütirik asit (GABA) ve glisin salınımı ile düzenlenir. NA ve 5-HT içeren nöronlar glutamat, GABA ve glisin salınımıyla aktif hale gelirler. İnci ağrı inhibitör sistemlerinin savaş yaralanmaları gibi acil durumlarda hızlı bir şekilde aktive olduğu da bilinmektedir (67).

Ağrı yollarındaki ilk sinapslar spinal dorsal köktedir ve bu bölge hem lokal segmental hem de supraspinal mekanizmalar aracılığıyla meydana gelen spinal nosiseptif iletimin kontrolü için anahtar bölgedir. İnci spinal nosiseptif sürecin düzenlenmesi pek çok beyin bölgesi ve ağrının ortaya çıkmasında önemli rol oynayan beyin kökünde olur (68). Ağrı iletimi üzerinde serebral korteks (anterior singulat, frontal ve pariyetal loblar), hipotalamus, periakuaduktal gri madde (PAG), parabrakiyal nükleus, rostral ventrolateral medulla (RVM) ve noradrenerjik hücre gruplarından A5, A6 (lokus seruleus), A7 (subseruleus) dahil çeşitli bölgeler rol oynarlar. RVM, A5, lokus seruleus (LC) ve subseruleus dorsolateral funikulus (DLF) aracılığıyla omuriliğe aksonlarını gönderen incisi sistemdir (67). Supraspinal orjinli serotonerjik ve noradrenerjik nöronların çoğu yüzeysel dorsal kökte dağılmış haldedir ve projeksiyon nöronları, internöronlar ve primer afferent nöronlarla sinaps yapar (4).

Periakuaduktal gri madde (PAG); frontal korteks, amigdala, hipotalamus, parabrakiyal nükleus, LC, dorsal raphe nükleus (DRN) ve RVM'ye karşılıklı 'inputlar' gönderir. Ayrıca PAG'ta bulunan GABAerjik (inhibitör) ve glutamerjik (eksitatör) nöronlar RVM nöronal aktivitesini düzenler. RVM'den çıkan spinal liflerin bir kısmı serotonerjik olarak tanımlanırken, büyük bir kısmı non-serotonerjiktir (4). Nükleus raphe magnus, nükleus paragigantoseleularis ve RVM'deki nükleus gigantoseleularisin ventral kısmından serotonerjik nöronlar omuriliğin dorsal kökünün yüzeysel laminasına gider. Antinosiseptif nitelikte olan bu yolağın uyarılması arka kökteki ağrı ile ilgili spinotalamik nöronların inhibisyonuna neden olur ve analjezi yapar (69,70). 5-HT'ye ek olarak P maddesi, somatostatin, enkefalin gibi çeşitli nöropeptidler ve GABA (inhibitör) ve glutamat (eksitatör) gibi nöropeptidler omuriliğe giden serotonerjik nöronlarla birlikte bulunur. Dolayısıyla bu nöropeptid ya da nöroaktif moleküllerin birlikte salınması 5-HT'nin etkilerini düzenler ve antinosisepsiyonun artmasına ya da azalmasına katkı sağlar (70). Çeşitli çalışmalarda 5-HT1A, 5-HT1B/D ve 5-HT7 reseptörlerinin aktivasyonu aracılığıyla antinosisepsiyon, 5-HT2A ve 5-HT3 reseptörlerinin aktivasyonu aracılığıyla da pronosisepsiyon meydana geldiği belirtilmektedir (4).

PAG-RVM-spinal dorsal kökün yanı sıra incisi modülatör yolların bir diğer anahtar bileşeni dorsolateral pontomezensefalik tegmentum (DLPT)'dur, bu yolak doğrudan

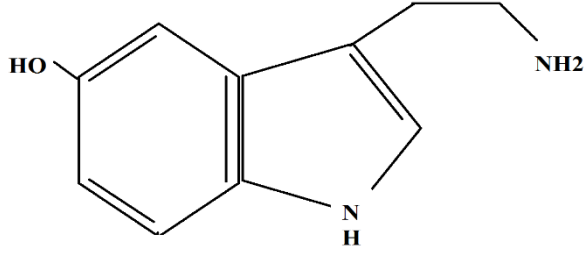
omuriliğe yönelir (4). Spinal dorsal kök inisi noradrenerjik yollardan güçlü innervasyon alır. Spinal noradrenalinin kaynağı beyin sapının noradrenerjik çekirdeğindeki inisi aksonlardır, özellikle de A5, A6 ve A7 noradrenerjik hücre gruplarıdır. Bu noradrenerjik hücre grupları orta beyinin PAG bölgesinden sinyalleri alır ve ağrıyla ilişkili davranışları etkiler (71). Noradrenerjik yollarda spinal α 2-adrenoseptörler aracılığıyla antinosisepsiyon, α -adrenoseptörler aracılığıyla da pronosisepsiyon üretildiği bilinmektedir (4,67). LC beyinde noradrenerjik hücre gövdelerinin bulunduğu önemli bir bölümdür ve LC tarafından uyarılarak indüklenen spinal nosiseptif cevapların inhibisyonu ventrolateral funikulus (VLF) lezyonu tarafından bloke edilir. Bu da gösteriyor ki VLF, LC'den gelen inisi noradrenerjik antinosiseptif etkilere aracılık eder. LC ve subseruleusun uyarılması antinosisepsiyon meydana getirir, spinal NA salınımını uyarır ve dorsal kökte bulunan nosiseptif nöronları inhibe eder. (4).

Kaşıntı sinyalleri primer duyu nöronları ve spinotalamik sistem nöronları ile beraber dorsal boynuz aracılığıyla periferden beyine iletilir. Kaşıntı ya da kaşınma tepkisi duysal yollaklarla ve spinal refleksiyle ilişkili olduğu için kaşıntı sinyal üretiminin inhibisyonu pruriseptif kaşıntı için ideal bir farmakolojik müdahaledir. Bu nedenle son yıllarda serotonin-noradrenalin re-uptake inhibitörleri kullanılarak omuriliği etkilemek suretiyle kaşıntının azaltılabileceği düşünülmektedir (14).

KULLANILAN İLAÇLAR

Serotonin (5-HT) Hidroklorid

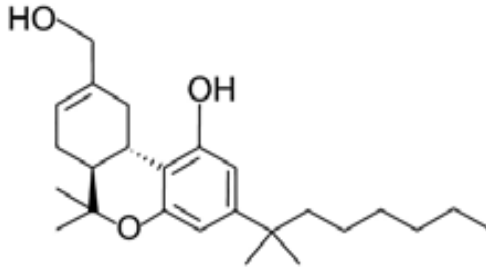
5-hidroksitriptamin (HT) insanlarda kaşıntıyı uyaran endojen biyojenik amindir (Şekil 3) (17). 5-HT histamin gibi fare ve sıçanlarda kaşıntı modeli oluşturmak için kullanılır. Çünkü 5-HT'nin sıçanlarda güçlü bir pruritojen olduğu bilinmektedir ve bu da omuriliğe kaşıntı duyularını ileten afferent liflerin özelliklerini açıklamak için kullanılabilir (15). Kemirgenlerde 5-HT'nin i.d. uygulaması ile meydana gelen kaşıntıya periferde 5-HT₂ reseptörleri aracılık eder (44). Sıçanlarda ve farelerde 5-HT'nin i.d. enjeksiyonu zararlı uyarana cevap olarak yüzeysel dorsal kök nöronlarının uzun süreli aktivasyonuna neden olur (45). Enseye topikal olarak 5-HT uygulaması kaşıntı oluşmasını uyarır ve uygulamadan sonra 5 dakika içinde kaşıntı oluşmaya başlar (15,72).



Şekil 3. 5-Hidroksitriptaminin kimyasal yapısı

WIN 55,212-2

Pravadolin türevi WIN 55,212-2 aminoalkilindol sınıfına ait CB1 ve CB2 reseptörlerinin non-selektif bir kannabinoid agonistidir (Şekil 4) (73,74). Endojen olarak meydana gelen ve sentetik olan kannabinoidler farede hipotermi, antinosisepsiyon gibi bir takım etkiler oluşturur. Bu davranışlar santral orjinli CB1 reseptörü aracılığıyla meydana getirilir. Yapılan çalışmalarda kannabinoid agonisti WIN 55,212-2'nin antinosiseptif etki ürettiği görülmüştür (5,14).



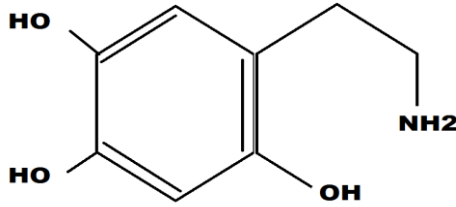
Şekil 4. WIN 55,212-2'nin kimyasal yapısı

Kannabinoid CB1 reseptörü üzerine etki eden farmasötik ajanlar NA salınımını modüle edebilir. Sıçanlarda yapılan bir çalışmada CB1 agonisti WIN 55,212-2 NA salınımını arttırmıştır. Yüksek dozda WIN 55,212-2 verilerek noradrenerjik nöronların in vivo aktivitesi yetişkin sıçanlarda arttırılabilir (75).

6-Hidroksidopamin (6-OHDA)

6-Hidroksidopamin (2,4,5-trihidroksifenetilamin, 6-OHDA) dopaminin oksidasyon ürünü olarak 1959'da tanımlanmıştır (Şekil 5). Dört yıl sonra Porter ve ark. (76) 6-OHDA'nın sistemik verilmesinden sonra sıçanlarda 2-3 ay içinde ortaya çıkan doza bağımlı olarak kardiyak NA azalması olduğunu kaydetmişlerdir. Bu bulgular ışığında 6-OHDA'nın periferik

noradrenerjik terminallerin dejenerasyonu için kullanılabileceği anlaşılmıştır. 6-OHDA sistemik olarak verildiğinde santral sinir sistemini ya çok az etkiler ya da hiç etkilemez. 6-OHDA'nın stabil olmayan yapısı nedeniyle hidrojen peroksit, hidroksil radikali, süperoksit anyon ve kuinon reaktifleri gibi çeşitli sitotoksik formlarla fizyolojik pH'a ayarlanır (77).

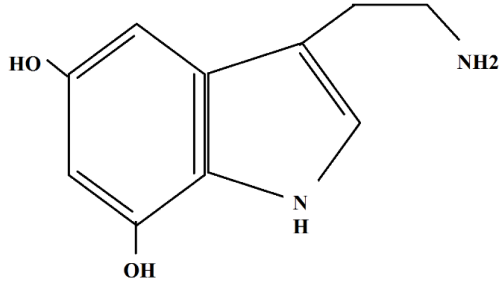


Şekil 5. 6-Hidroksidopaminin kimyasal yapısı

6-OHDA dopaminerjik nöronlarda seçici bir şekilde dejenerasyon yapan bir dopamin analogudur (78,79). 6-OHDA'nın nörotoksik etkilerinin altında yatan mekanizma otooksidasyona eğilimli bir redoks sistemi olan nörotoksinin fizikokimyasal özellikleriyle ilişkilidir (77). 6-OHDA'nın i.t. uygulaması dopamin ve 5-HT seviyelerini etkilemeksizin sıçan lomber omuriliğinde NA seviyesinin azalmasına neden olur (12). Katekolaminerjik nörotoksin 6-OHDA'nın i.t. injeksiyonu ile beraber spinal NA depleksiyonu kaşıntıyla ilişkili davranışları azaltır; bu yüzden inisi noradrenerjik sistemle beraber omurilikte pruriseptif transmisyonun tonik inhibisyonu olasıdır (14).

5,7-Dihidroksitriptamin (5,7-DHT)

5,7-dihidroksitriptamin (5,7-DHT) akson ve terminallerde 5-HT yıkımı yapan bir serotonin analogudur (Şekil 6). 5,7-DHT yapısal olarak 5-HT'ye çok benzer ve sinaptozomlar ve beyin bölgeleri tarafından 5-HT up-take mekanizmasını antagonize eder (80). 5,7-DHT'nin serotonerjik nöronların nörotoksik aksotomisine uygun olabilen redoks sistem özelliği vardır. 5,7-DHT intraserebroventriküler (i.c.v.), intraserebral veya spinal olarak sıçanlara uygulandığında serotonerjik nöronların terminal ve aksonal dejenerasyonuna neden olur (78). 5,7-DHT 5-HT taşıyıcıları aracılığıyla taşınan 5-HT konsantrasyonuna bağlı olarak serotonin depleksiyonuna neden olur (80).



Şekil 6. 5,7-Dihidroksitriptaminin kimyasal yapısı

GEREÇ VE YÖNTEMLER

Bu çalışma için Trakya Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul onayı alınmış (TÜHDYEK-2013.01.21) ve çalışmamız Trakya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (TÜBAP-2013/44) tarafından desteklenmiştir.

DENEKLER

Çalışmamızda, ağırlıkları 20-30 g olan, 120 adet erkek Balb/c fare kullanıldı. Tüm farelerin boyun arka bölgesi (ense) tüyleri deneylere başlamadan 3 gün önce tıraş edildi (Şekil 7). Her grupta 10 adet fare olmak üzere 12 grup oluşturuldu.

KULLANILAN İLAÇLAR VE ÇÖZÜCÜLERİ

İlaçlar

Serotonin hidroklorid, SIGMA-ALDRICH (St. Louis. MO, USA)

(R)-(+)-WIN 55,212-2 mezilat, SIGMA-ALDRICH (St. Louis. MO, USA)

5,7-Dihidroksitriptamin kreatinin sülfat tuzu, SIGMA-ALDRICH (St. Louis. MO, USA)

6-Hidroksidopamin hidroklorid, SIGMA-ALDRICH (St. Louis. MO, USA)

Desipramine, TOCRIS (Bristol, BS, UK)

İlaç Çözücüleri

Serotonin ve desipramin izotonik sodyum klorür solüsyonu içinde, 5,7-DHT ve 6-OHDA ultra saf su içinde, WIN 55,212-2 %20 DMSO, %5 etanol, %5 Tween 80, %70 izotonik sodyum klorür içinde çözülerek kullanıldı.

DENEY DÜZENİ

Grup 1 kontrol grubu olarak ayrıldı ve bu gruptaki farelere intraperitonel (i.p.) olarak WIN 55,212-2 çözücüsü verildi. 30 dk sonra farelerin ense bölgesine kaşıntı oluşturan %0,5'lik 5-HT (250 µg/50 µl/fare) hamilton enjektörle subkutan (s.k.) yolla verildi (Şekil 8). Hemen ardından 30 dakika boyunca farelerin arka ayakları ile ense bölgelerini kaşımaları kameraya alındı ve sonrasında da sayıldı (Şekil 9,10).

Grup 2-4'e farklı dozlarda kannabinoid reseptör agonisti WIN 55,212-2 (1, 3, 10 mg/kg, i.p.) verildi ve enjeksiyonu takiben 30. dakikada 5-HT (250 µg/50 µl/fare) grup 1'de tarif edildiği şekilde uygulandı ve 30 dakika boyunca farelerin arka ayakları ile ense bölgesini kaşımaları kameraya alındı ve sonrasında da sayıldı.

Grup 5'e i.t. olarak 5,7-DHT (50 µg/fare) verilerek inisi serotonerjik sistem harap edildi, 3 gün sonra 5-HT (250 µg/50 µl/fare) s.k. olarak 1. grupta tarif edildiği şekilde verildi ve 30 dakika boyunca kaşıntı sayıları sayıldı. 5,7-DHT'nin noradrenerjik terminallere uptake'ini önlemek amacıyla 5,7-DHT uygulanacak gruplara bu uygulamadan 30 dk önce i.p. olarak desipramin verildi.

Grup 6-8'e Grup 5'te tanımlandığı şekilde 5,7-DHT i.t. olarak uygulandı. 3 gün sonra farklı dozlarda WIN 55,212-2 (1, 3, 10 mg/kg, i.p.) verildi. 30 dk sonra 5-HT uygulandı ve 30 dk boyunca diğer gruplardaki gibi kaşıntı sayıldı. 5. Gruba benzer şekilde, bu gruplarda da 5,7-DHT'den önce desipramin uygulaması yapıldı.

Grup 9'a i.t. olarak 6-hidroksidopamin (6-OHDA, 20 µg/fare) verilerek inisi noradrenerjik sistem harap edildi. 3 gün sonra 5-HT enjeksiyonunu takiben 30 dk kaşıntı sayımı yapıldı.

Grup 10-12'ye Grup 9'daki gibi 6-OHDA uygulandı. 3 gün sonra farklı dozlarda WIN 55,212-2 (1, 3, 10 mg/kg, i.p.) verildi. 30 dk sonra 5-HT uygulandı ve 30 dk boyunca diğer gruplardaki gibi kaşıntı sayıldı.

İtratekal enjeksiyon farelerin L5 ve L6 omurları arasından 10 µl hacminde hamilton enjektöre takılmış 30-gauge iğne kullanılarak Hylden ve Wilcox yönteminden uyarlanarak yapıldı (Şekil 11) (81).

Grup 1, Grup 5 ve Grup 9'daki toplam 30 farenin testleri tamamlandıktan sonra dekapitasyonu takiben omurilikleri çıkarıldı. Lomber arka kökteki 5-HT ve NA düzeyleri Trakya Üniversitesi Teknoloji Araştırma Geliştirme Merkezi (TUTAGEM) bünyesinde yer alan likid kromatografi-uçuş zamanlı kütle spektroskopisi (LC-Triple quadrapol TOF 4600) cihazıyla ppb seviyesinde ölçüldü (Şekil 12). Böylelikle, i.t. uygulanan 6-OHDA ve 5,7-DHT

kullanılarak gerçekeřtiđi dűřünűlen inisi serotonerjik ve noradrenerjik yolakların harabiyeti teyit edilmesi planlandı.

Çalışmada kullanılan grupların özeti Tablo 1 de gösterilmiştir.

Tablo 1. Deney grupları

Deney ve kontrol grupları		Grup başına hayvan adedi
Grup 1	5-HT kontrol grubu	10
Grup 2	WIN 55,212-2 (1 mg/kg, i.p.) + 5-HT	10
Grup 3	WIN 55,212-2 (3 mg/kg, i.p.) + 5-HT	10
Grup 4	WIN 55,212-2 (10 mg/kg, i.p.) + 5-HT	10
Grup 5	5,7-DHT+ 5-HT	10
Grup 6	WIN 55,212-2 (1 mg/kg, i.p.) + 5,7-DHT + 5-HT	10
Grup 7	WIN 55,212-2 (3 mg/kg, i.p.) + 5,7-DHT + 5-HT	10
Grup 8	WIN 55,212-2 (10 mg/kg, i.p.) + 5,7-DHT + 5-HT	10
Grup 9	6-OHDA + 5-HT	10
Grup 10	WIN 55,212-2 (1 mg/kg, i.p.) + 6-OHDA + 5-HT	10
Grup 11	WIN 55,212-2 (3 mg/kg, i.p.) + 6-OHDA + 5-HT	10
Grup 12	WIN 55,212-2 (10 mg/kg, i.p.) + 6-OHDA + 5-HT	10

İstatistiksel Analiz

Benzer tasarımda yapılmış çalışmalardan elde edilen verilerden tahmin edilerek;

Serotonin gruplarının ANOVA ile karşılaştırmaları için;

Ortalamalar arasında saptanması planlanan en düşük fark	30,00
Standart sapma	15,000
Grup sayısı	12
İstenen Power	0,800
Alfa	0,050

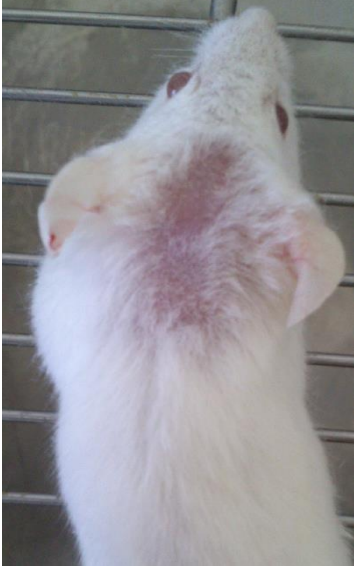
Değerlerine göre örnek büyüklüğü 10³ dur.

12 grup için toplam 120 hayvana gereksinim olduğu belirlendi.

(Kestirim SigmaStat for Windows Version 3.5 kullanılarak yapıldı).

Bu hesaplamaya dayanarak her grup 10 fare içerecek şekilde düzenlendi.

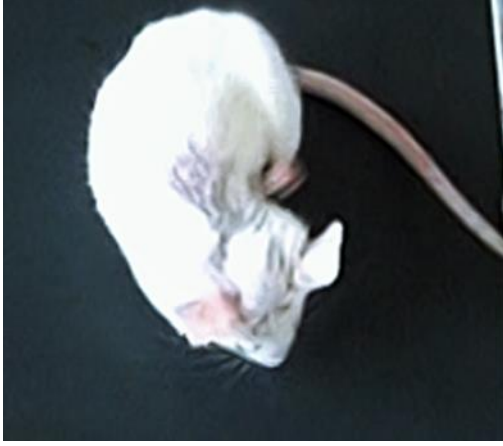
Elde edilen yanıtlar bilgisayara aktarılarak, oluşturulan kaşıntı sayıları üzerine ilaçların etkinliklerinin belirlenmesi için tek yönlü varyans analizi (One Way ANOVA) ve takiben *Bonferroni t* testi ile istatistiksel değerlendirme yapıldı (GraphPad prism 6 for windows version 6.05). $P < 0,05$ olan değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.



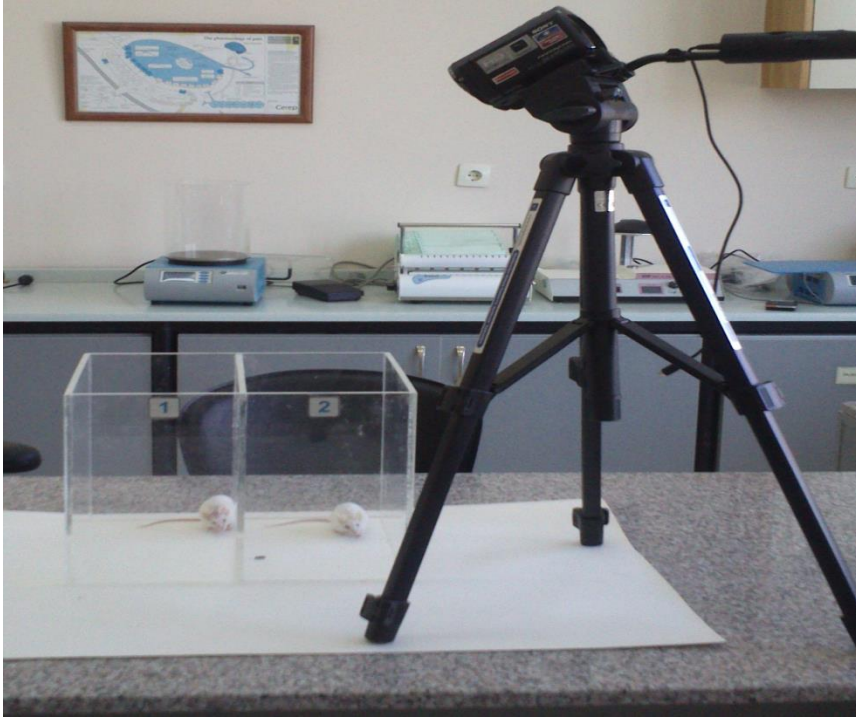
Şekil 7. Farenin ense bölgesi traşı.



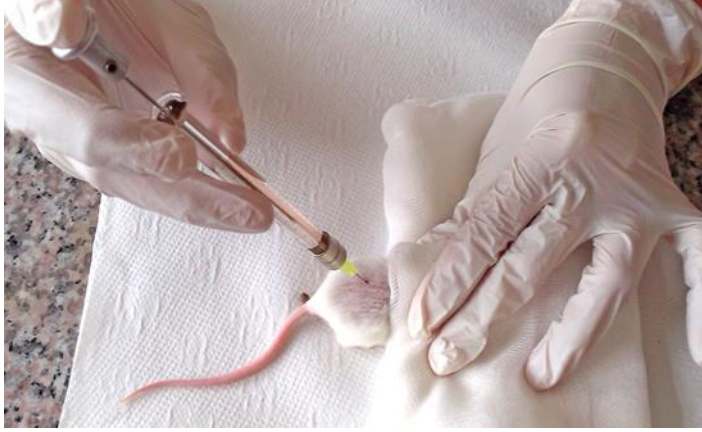
Şekil 8. Subkutan injeksiyon.



Şekil 9. Farenin arka ayağı ile ense bölgesini kaşması.



Şekil 10. Deney düzeneği ve kamera ile kaşıntı sayımı.



Şekil 11. İntratekal injeksiyon.



Şekil 12. Likid kromatografi-uçuş zamanlı kütle spektroskopisi (LC-Triple quadrapol TOF 4600) cihazı.

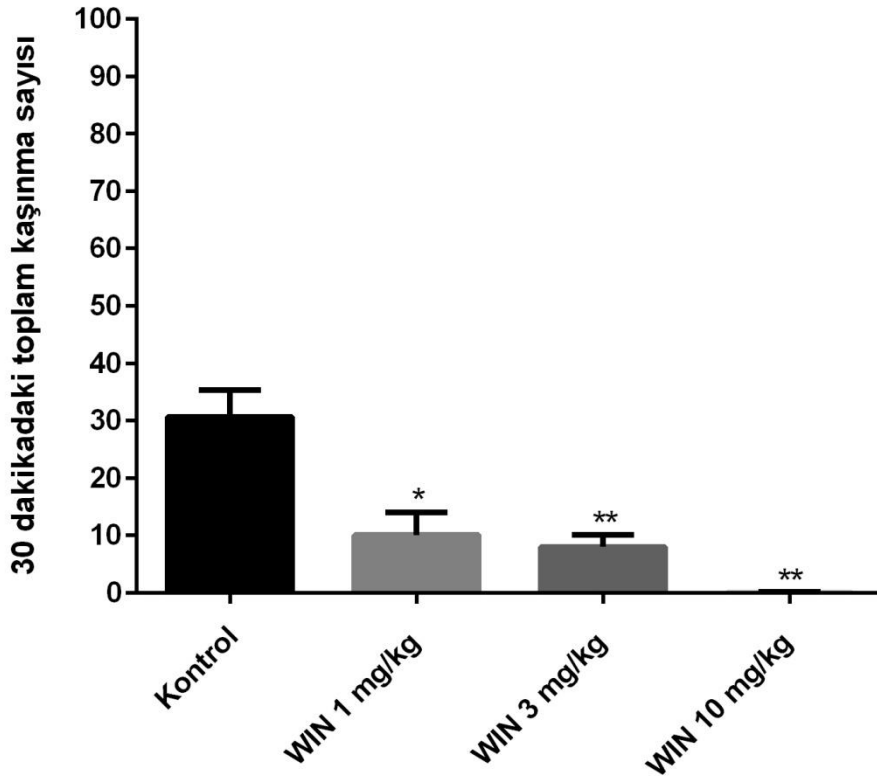
BULGULAR

Çalışmamızda kullandığımız tüm gruplarda 5-HT ile yalnızca 1 kez kaşıntı oluşturuldu ve 30 dk boyunca farelerin kaşınmaları kayıt edildi ve sayıldı. 5-HT ile oluşturulan kaşıntı üzerine WIN 55,212-2'nin artan dozlarının etkisi incelendi. Böylelikle kannabinoid reseptör agonisti WIN 55,212-2'nin antipruritik etkinlik gösterip göstermediği ve eğer gösteriyorsa bunun hangi dozlarda olduğu belirlendi. Daha sonra, inisi serotonerjik ve noradrenerjik sistemler sırasıyla 5,7-DHT ve 6-OHDA ile harap edilerek, bu sistemlerin WIN 55,212-2'nin antipruritik aktivitesi üzerine etkileri değerlendirildi.

Grup 1, grup 5 ve grup 9'daki 30 farenin kaşıntı testleri tamamlandıktan sonra omuriliklikleri çıkarıldı. Lomber segment arka kökleri ayrılarak 5-HT ve NA düzeyleri ölçüldü.

WIN 55,212-2'nin Serotonin İle Oluşturulan Kaşıntı Üzerine Etkisi

Çalışmamızda ilk olarak WIN 55,212-2'nin artan dozlarının (1, 3, 10 mg/kg, i.p.) serotonin ile oluşturulan kaşıntı üzerine etkinliği incelendi. WIN 55,212-2'nin artan dozlarının (grup 2-3-4) kontrole göre (grup 1) belirgin derecede antipruritik etkinlik gösterdiği belirlendi. Bu etki yüksek doz WIN 55,212-2 (3, 10 mg/kg, $p<0.001$) ile düşük doza (1 mg/kg, $p<0.005$) oranla daha da belirgindi (Şekil 13).

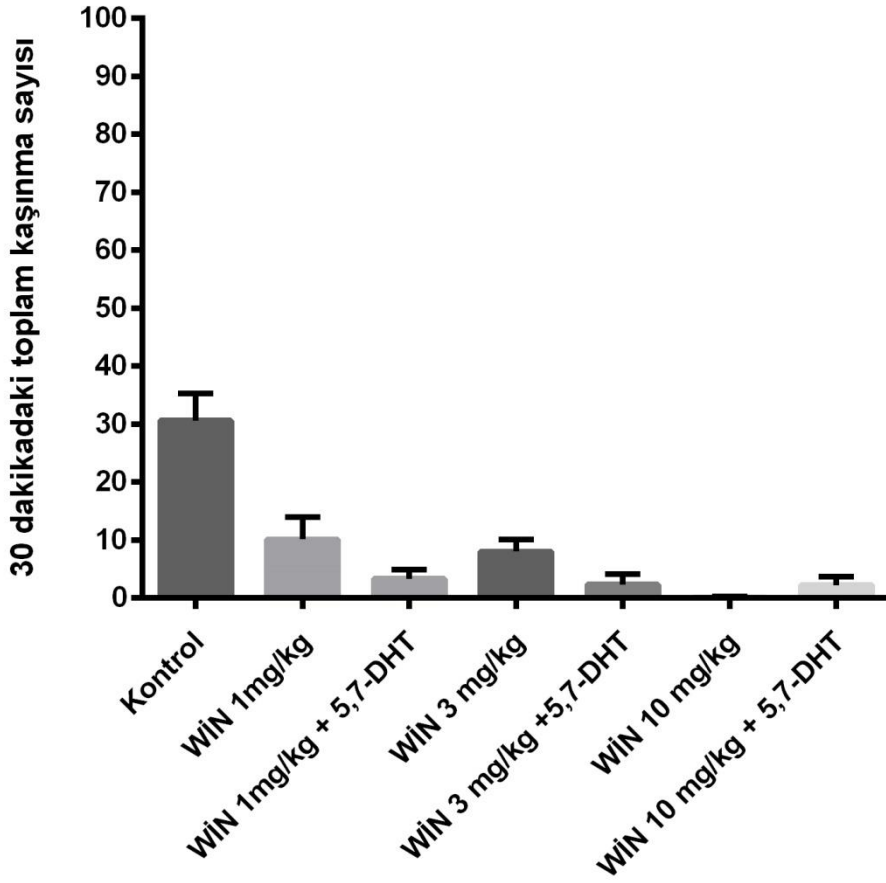


Şekil 13. Artan dozlarda WIN 55,212-2'nin antipruritik etkisi.

(* $p<0,005$, ** $p<0,001$ kontrole göre tek yönlü varyans analizi, post hoc *Bonferroni test*).

İnici Serotonerjik Sistemin Harabiyetinin WIN 55,212-2'nin Antipruritik Aktivitesi Üzerine Etkisi

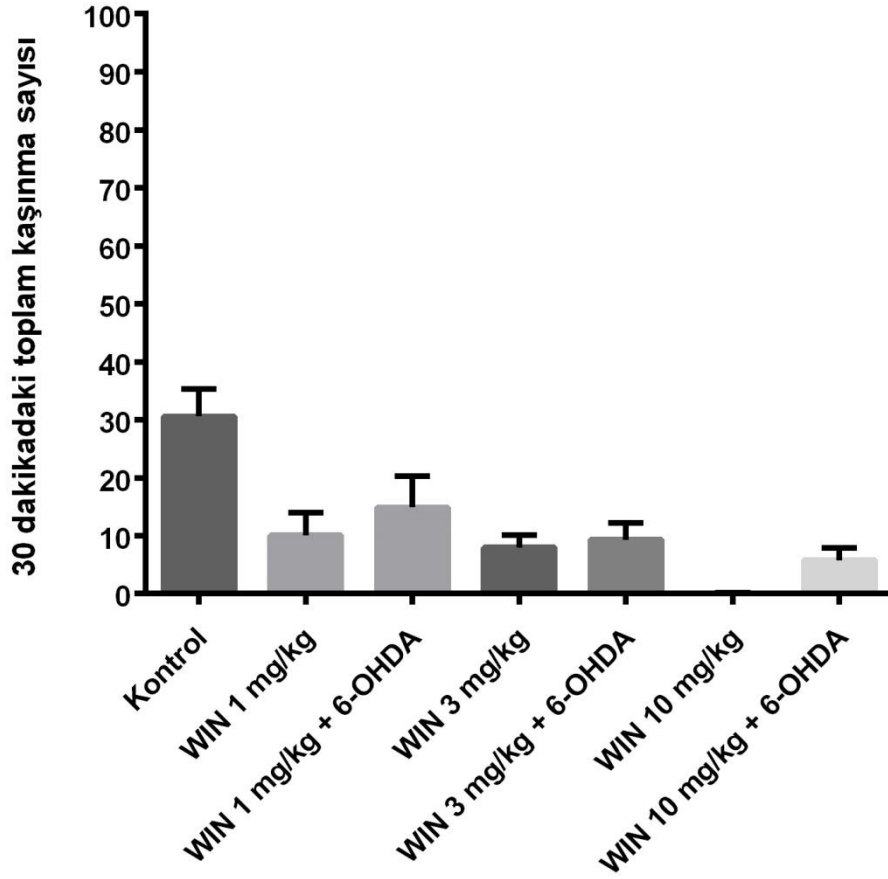
Aynı dozlar kullanılarak WIN 55,212-2 verilen bir diğer 3 gruba (Grup 6-7-8) WIN 55,212-2 uygulanmasından 3 gün önce i.t. olarak 5,7-DHT (50 µg/fare) verilerek inisi serotonerjik sistem harap edildi. 5,7-DHT'nin noradrenerjik terminallere up-take'ini önlemek amacıyla 5,7-DHT uygulanacak gruplara bu uygulamadan 30 dk önce i.p. olarak desipramin verildi. Böylece inisi serotonerjik sistemin WIN 55,212-2'nin antipruritik etkisindeki rolü araştırıldı. İnici serotonerjik sistemin harabiyeti hiçbir dozunda WIN 55,212-2'nin antipruritik etkisini istatistiksel olarak değiştirmede (Şekil 14).



Şekil 14. WIN 55,212-2'nin antipruritik etkisinde inisi serotonerjik sistemin rolü.

İnici Noradrenerjik Sistemin Harabiyetinin WIN 55,212-2'nin Antipruritik Aktivitesi Üzerine Etkisi

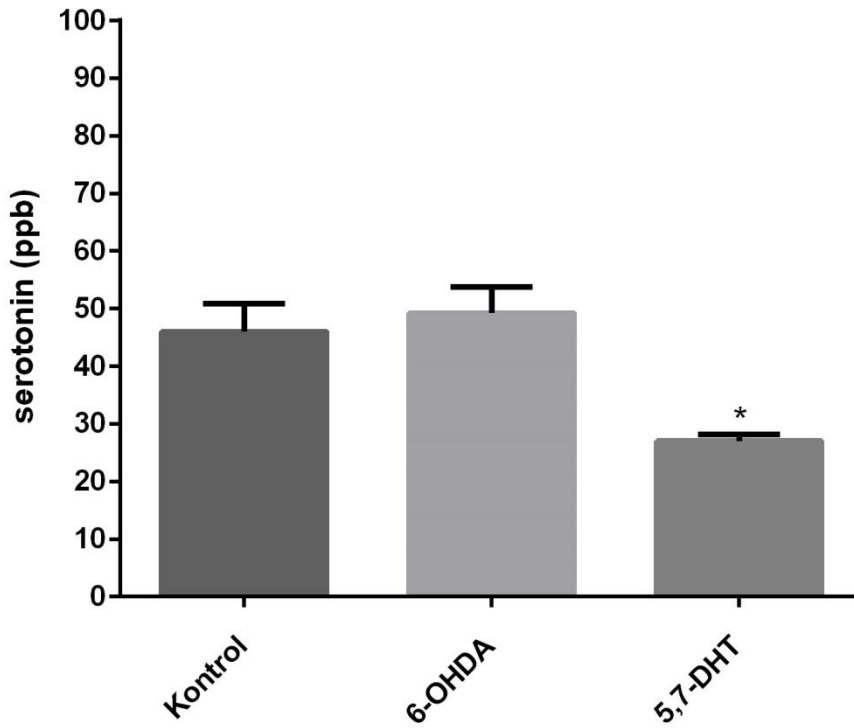
Aynı dozlar kullanılarak WIN 55,212-2 verilen bir diğer 3 gruba (grup 10-11-12) WIN 55,212-2 uygulanmasından 3 gün önce i.t. olarak 6-OHDA (20 µg/fare) verilerek inici noradrenerjik sistem harap edildi. Böylece inici noradrenerjik sistemin WIN 55,212-2'nin antipruritik etkisindeki rolü araştırıldı. İnici noradrenerjik sistemin harabiyeti, serotonerjik sisteme benzer şekilde hiçbir dozunda WIN 55,212-2'nin antipruritik etkisini istatistiksel olarak değiştirmedir (Şekil 15).



Şekil 15. WIN 55,212-2'nin antipruritik etkisinde inici noradrenerjik sistemin rolü.

Omurilik Lomber Segment Serotonin ve Noradrenalin Düzeyleri

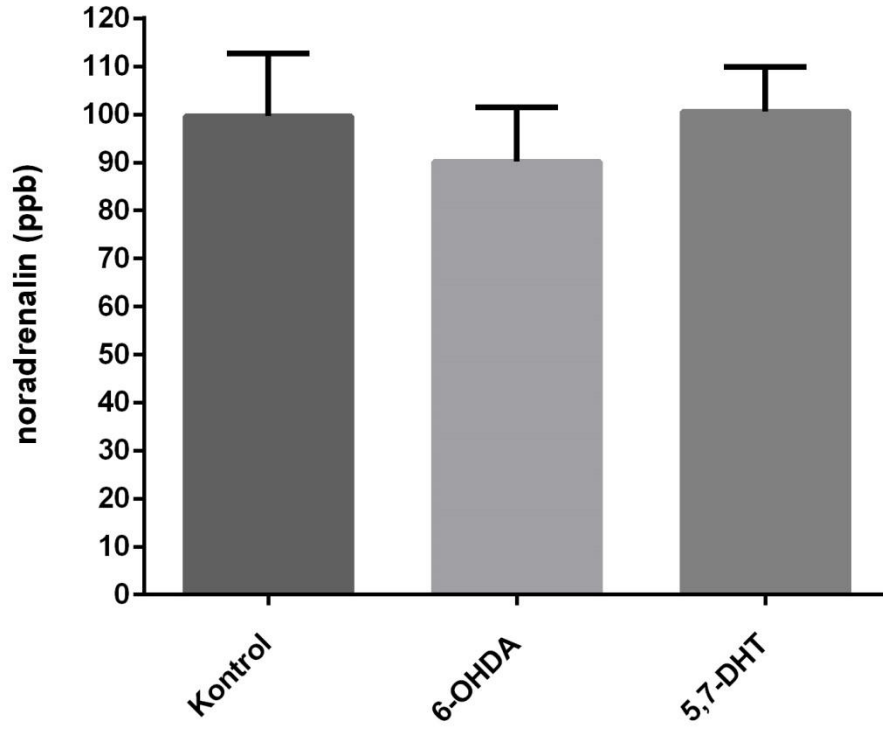
Grup 1 (Kontrol), Grup 5 (5,7-DHT) ve Grup 9 (6-OHDA)'daki toplam 30 farenin testleri tamamlandıktan sonra omurilik lomber segmentleri çıkartıldı ve arka kısmı kesilerek alındı ve 5-HT ve NA doku düzeyleri ölçüldü. 5,7-DHT uygulandıktan sonra 5-HT düzeylerinde kontrol grubuna göre yaklaşık %41'lik bir düşüş görülürken (Şekil 16), 6-OHDA uygulandıktan sonra NA düzeyleri kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı derecede farklı bulunmadı (Şekil 17).



Şekil 16. Lomber segment omurilik arka kök serotonin düzeyleri.

(* $p < 0,05$ kontrole göre tek yönlü varyans analizi, post hoc Bonferroni test)

ppb: ng/ml



Şekil 17. Lomber segment omurilik arka kök noradrenalin düzeyleri.
ppb: ng/ml

TARTIŞMA

Giriş bölümünde de belirtildiği gibi, kannabinoidlerin analjezik etkilerine ilişkin yapılan araştırma sayısı son derece fazladır. Kannabinoidler ağrı duyusunun hafifletilmesi için yıllardır kullanılmaktadır. Kannabinoidlerin normal inhibitör yolları ve insanlardaki patofizyolojik süreci etkileyerek, glutamat, GABA, NA salınımını etkilemek suretiyle antinösetif etkiye katkı sağladığı yapılan araştırmalarda belirtilmektedir (13,15). PAG, RVM, amigdala, dorsal raphe nükleus ve talamus gibi spesifik beyin bölgelerine kannabinoidlerin injeksiyonu santral antinösetif etkide kannabinoid reseptörlerinin rolünü göstermiştir (19). Bununla birlikte, ağrı ve kaşıntı mekanizmaları arasındaki birçok benzerliklere karşın (1-3), kannabinoidlerin kaşıntı üzerine etkileri yeterince araştırılmamış durumdadır.

Pruritus karaciğer kolestazından sıkıntı çeken hastaların %70'inde, böbrek yetmezliği bulunanların %20'sinde ve atopik dermatitli hastaların çoğunda ve daha çeşitli patolojik koşullarda ortaya çıkan önemli bir klinik problemdir. Yapılan farmakoterapilerin neredeyse hiç biri kaşıntının uzun süreli azaltılması için yeterli değildir (82). Bu nedenle bu araştırmada biz kannabinoidlerin kaşıntı üzerine olan terapötik potansiyelini değerlendirdik. Her iki kannabinoid reseptörü CB1 ve CB2 kutanöz duyuşal sinir lifleri, mast hücreleri ve keratinositler üzerinde eksprese edilir. Kannabinoid reseptörlerinin pruritusun azalmasıdaki rolü yapılan çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir (83). Kannabinoidlerin topikal uygulamasının kaşıntının azalmasına yardımcı olabileceği hakkında bilgiler vardır (19). THC, CB1 reseptör agonisti ve zayıf bir CB2 reseptör antagonistinin kolestazlı hastaların kaşıntısını hafiflettiği bildirilmiştir (84). Darmani ve Pandya (85) kannabinoid reseptör agonistlerinin kaşıntı davranışını azaltma eğiliminde olduğunu, rimonabant gibi kannabinoid reseptör antagonistlerinin ise farede doz-bağımlı olarak kaşıntı davranışını arttırdığını göstermişlerdir.

Rimonabantın kaşıntı oluşturduğu ve bu etkinin kannabinoid reseptör agonistleri tarafından azaltıldığı da diğer bazı araştırmalarda da belirtilmiştir (73,86). Rimonabant tarafından uyarılan kaşıntı davranışının 5-HT_{2A/2C} reseptör antagonisti ritanserin tarafından azaltılabildiği gösterilmiştir (83). Yapılan birçok çalışmada rimonabant kaynaklı kaşıntı davranışının santral olarak bazal gangliyada ya da substantia nigra veya kutanöz sinir lifleri üzerinde bulunan CB₁ reseptörleri aracılığıyla periferik olarak düzenlenebildiğini göstermiştir. Ancak CB₁ reseptör antagonizması ile kaşıntının oluşturulmasına karşı çıkan deneysel kanıtlar vardır. Örneğin, bir çalışmada beyine az miktarda nüfus edebilen CB₁ reseptör antagonisti LH-21'in kaşıntı davranışına neden olmadığı bulunmuştur (87). Ayrıca, s.k. tetrahidrokannabinol uygulamasının lokal olarak 48/80 ile oluşturulan kaşıntıları suprese ettiği belirlenmiştir (88). Dvorak ve ark (88) seçici olmayan bir kannabinoid reseptör agonisti HU210'nun insanlarda histamin kaynaklı kaşıntıyı azalttığını rapor etmişlerdir. CB₂ reseptörü ters agonisti SR144528'in farelerde araşidonik asit salınımı bloke ettiği, araşidonik asidin ise kaşıntıyla ilişkili davranışları uyardığı bilinmektedir. Dolayısıyla CB₂ reseptörü ters agonistleri kaşıntıyla ilişkili davranışları baskılayabilir (84). Bir CB₂ reseptörü ters agonisti olan JTE-907'nin farelerde özellikle de kronik dermatiti olan farelerde spontan kaşıntı davranışını inhibe ettiği bulunmuştur. Sentetik bir kannabinoid reseptör agonisti dronabinolün kolestazisle ilgili pruritusu azalttığı bildirilmiştir (89). Son yıllarda keşfedilen CB₂ üzerine yüksek afinite gösteren ve CB₁ üzerinde seçiciliği olan bisiklik 2-pridon türevi 18e farede 48/80 bileşiği ile oluşturulan kaşıntı davranışını inhibe etmiştir (83). Darmani ve Pandya (85) CB₁ ve CB₂ reseptör agonistleri olan THC, WIN55212-2 ve CP55940, 5-HT_{2AC} reseptör agonisti tarafından uyarılan kaşıntı davranışını azalttığını bildirmişlerdir.

Bu araştırmalara ek olarak, endokannabinoid sistemin de kaşıntı davranışında rol oynadığına ilişkin yakın zamanda yapılmış az sayıda çalışma bulunmaktadır (72,82,90). Endokannabinoid sistem periferik sistemi hedef alan kaşıntının baskılanması için çalışılması gereken önemli bir sistem olarak görülmektedir (90). Endokannabinoid degrade edici enzimlerin blokajının antinosiseptif etkiler yaptığı düşünülmektedir. Burdan yola çıkarak yağ asidi amid hidrolaz (FAAH), monoaçilgliserol lipaz (MAGL) ya da endokannabinoidlerin hücrel inhibisyonunun kaşıntı davranışını azaltabileceğine dair çalışmalar yapılmıştır (72,82). FAAH inhibitörü URB597, MAGL inhibitörü JZL184 ve endokannabinoid transport inhibitörü AM404 verilerek yapılan bir çalışmada kaşıntı davranışı değerlendirilmiş, ve URB597 ve JZL184'ün 5-HT ile oluşturulan kaşıntı davranışını azalttığı, ancak AM404'ün bir etki yapmadığı bulunmuştur (72). Yapılan bir başka araştırma da endokannabinoid 2-araşidonilgliserol (2-AG) ve anandamid (N-araşidoniletanolamid, AEA) degrade edici enzim

inhibitörlerinin uygulamasının 5-HT kaynaklı kaşıntı davranışında azalma meydana getirdiği bulunmuştur (90). Endokannabinoid anandamidin degradasyonundan sorumlu primer enzim olan FAAH 48/80 bileşiği ile kaşıntı oluşturulan deney gruplarında değerlendirilmiş, ve nöronal FAAH supresyonunun CB1 reseptör aktivasyonu aracılığıyla kaşıntıyı azalttığı bulunmuştur (82). Biz de çalışmamızda, bu araştırmalardan elde edilenlere yakın sonuçlar elde ettik ve kannabinoid reseptör agonisti WIN 55,212-2'nin 5-HT ile oluşturulan kaşıntıları doz-bağımlı olarak azalttığını gösterdik. Kullandığımız en yüksek doz olan 10 mg/kg dozunda WIN 55,212-2'nin kaşıntıları tamamen ortadan kaldırdığını da ayrıca gözledik.

İnici inhibitör monoaminerjik yolların ağrının kontrolündeki çok önemli rolü uzun yıllardır bilinmekte (10, 11), ancak önemi nedeniyle konuya ilişkin yapılan çalışmalar halen devam etmektedir. İnici inhibitör yolların sadece nosisepsiyon değil aynı zamanda kaşıntı ile de ilişkili olduğuna dair de az sayıda araştırma yapılmıştır. Yapılan bir araştırmada serotonin-noradrenalin geri alım inhibitörü olan milnasipranın i.t. uygulaması doza bağlı olarak 5-HT kaynaklı kaşıntıyı inhibe etmiş, ancak 5-HT kaynaklı kaşıntı 5-HT geri alım inhibitörü fluvoksamin uygulaması ile inhibe edilememiştir. Ayrıca milnasipranın inhibe ettiği 5-HT kaynaklı kaşıntı, seçici olmayan bir α -adrenoseptör agonisti fentolaminin i.t. injeksiyonu ile artmıştır. Bu durumun NA konsantrasyonundaki artışa bağlı olarak ortaya çıkmış olabileceği düşünülmüştür (14). Katekolaminerjik nörotoksin 6-OHDA'nın i.t. injeksiyonu ile spinal NA'nin depleasyonu kaşıntıyla ilişkili davranışları arttırdığı çeşitli çalışmalarda bildirilmektedir (91,92). Ancak serotonerjik nörotoksin 5,7-DHT'nin neden olduğu spinal 5-HT depleasyonunun kaşıntıyla ilişkili davranışları arttırmadığı görülmüştür. Bu sonuçlar doğrultusunda serotonerjik sistemin değil, fakat inisi noradrenerjik sistemin omurilikte alerjik kaşıntı sinyallemesini tonik olarak inhibe ettiği gösterilmiştir (91).

Omurilikte α 1 ya da α 2 adrenoseptörlerin uyarılması farede kaşıntıyla ilişkili davranışlarda önemli bir azalma meydana getirdiği anlaşılmıştır (14). α 1-adrenoseptör agonisti fenilefrin ve α 2-adrenoseptör agonisti klonidinin i.t. uygulaması ile farelerde kaşıntı davranışının azaldığı yapılan çalışmalarda belirtilmiştir. Ayrıca α 1-adrenoseptör antagonisti prazosin ve α 2-adrenoseptör antagonisti yohimbin ise kaşıntı davranışlarını arttırmıştır (14). Dolayısıyla hem α 1 hem de α 2 adrenoseptör antagonistleri pruritojen kaynaklı kaşıntıyı inhibe etmek için omuriliğe etki ederler (15,92,93). Bu nedenle, inisi noradrenerjik sistem ve α 1/2-adrenoseptörler kaşıntı için potansiyel tedavi hedefi olarak görülmektedirler (15). Gutierrez ve ark. (12) ise inisi noradrenerjik yolların nörotoksik harabiyetinin kannabinoid agonisti WIN55,212-2'nin oluşturduğu antinosiseptif etkiyi kısmen ortadan kaldırdığını göstermişlerdir. Yapılan bir diğer çalışmada da α 2-adrenoseptör blokleri yohimbin ve 5-HT

reseptör blokeri metiserjid ile yapılan i.t. uygulama sonucu α 2-adrenoseptörleri ve 5-HT reseptörlerinin blokajı supraspinal olarak verilen endomorfının oluşturduğu antinosisepsiyonu etkili bir şekilde ortadan kaldırmıştır (94). Bizim elde etmiş olduğumuz sonuçlar, kannabinoidlerin antinosiseptif aktivitesi üzerine olan etkisinden farklı olarak, antipruritik aktivitesi üzerine inisi inhibitör yollarının etkisi olmadığını göstermektedir. Bu bulgular, kannabinoidlerin antinosiseptif ve antipruritik etkilerinin farklı mekanizmalar aracılığıyla ortaya çıktığını göstermektedir.

Çalışmamızda, inisi serotonerjik veya noradrenerjik sistemlerin harap edilmesinin göstergesi olarak doku 5-HT ve NA düzeylerinde beklenen düşüş görülmedi. 5,7-DHT uygulandıktan sonra 5-HT düzeylerindeki düşüş yaklaşık olarak %41 civarında iken, 6-OHDA uygulandıktan sonra NA düzeylerinde hiçbir değişiklik olmadı. Dogrul ve ark. (95) yüksek basınçlı sıvı kromatografisi cihazı ile yaptıkları ölçümde doku 5-HT seviyesinde %85 civarında bir azalma olduğunu belirtmektedir. Benzer şekilde Hung ve ark. (94) da doku NA ve 5-HT düzeylerinde %90-95 azalma olduğunu yüksek basınçlı sıvı kromatografisi cihazında elektrokimyasal detektör kullanarak göstermişlerdir. Yapılan bir başka çalışmada ise nörotoksin 5,7-DHT'nin i.t. uygulamasının omurilik düzeyinde 5-HT seviyesini %92 oranında azalttığı bulunmuştur (11). Biz de serotonerjik nörotoksin 5,7-DHT ve noradrenerjik nörotoksin 6-OHDA'nın omuriliğe i.t. uygulaması sonucu oluşturmaya çalıştığımız doku 5-HT ve NA düzeylerindeki düşüş oranını likid kromatografi-uçuş zamanlı kütle spektroskopisi cihazıyla ölçtük. Bizim ölçümlerimiz sonucunda elde ettiğimiz 5-HT ve NA düzeylerinde %80-90'lara varacak derecede bir azalışın gösterilememesinin yöntemsel bir hatadan kaynaklandığını düşünmekteyiz.

Sonuçlarımız, i.p. olarak uygulanan kannabinoid reseptör agonisti WIN55,212-2'nin 5-HT ile oluşturulan kaşıntıları doz-bağımlı olarak ortadan kaldırdığını göstermektedir. İnisi serotonerjik veya noradrenerjik sistemlerin nörotoksin 5,7-DHT ve 6-OHDA kullanılarak harap edilmesinin kannabinoidlerin antinosiseptif etkisinden farklı olarak kaşıntıyı önleyici etkisini değiştirmedini gördük, dolayısıyla da kannabinoidlerin antinosiseptif ve antipruritik aktivitelerine farklı mekanizmaların aracılık ettiği düşünülebilir. Etki mekanizması ne olursa olsun, yan etkileri azaltıldığı takdirde kannabinoidlerin kaşıntı tedavisinde gelecekte kullanılabilecek ilaçlar arasında olduğu düşüncesindeyiz.

SONUÇLAR

Kannabinoidlerin analjezik etkinliği uzun zamandır bilinmektedir. Ancak ağrı ve kaşıntı mekanizmaları arasında birçok benzerlik olmasına rağmen, kannabinoidlerin kaşıntı üzerine olan etkisi çok fazla araştırılmamıştır. Biz çalışmamızda kannabinoid reseptör agonisti WIN 55,212-2'nin (1, 3, 10 mg/kg i.p.) farede 5-HT ile oluşturulan kaşıntı üzerine olan etkisini inceledik.

İnici inhibitör monoaminerjik yolların da ağrı yönetiminde önemli rol oynadığı yıllardır kabul edilmektedir. Bunun yanı sıra inisi inhibitör yolların kaşıntı ile de bağlantılı olduğu düşünülmektedir. Bu nedenle çalışmamızda serotonerjik nörotoksin 5,7-DHT ve noradrenerjik nörotoksin 6-OHDA ile spinal 5-HT ve NA depleasyonu sağlanarak WIN 55,212-2'nin (1, 3, 10 mg/kg i.p.) 5-HT ile kaşıntı oluşturulan gruplar üzerinde kaşıntıyı nasıl etkilediğini değerlendirdik.

Elde ettiğimiz sonuçlar kannabinoid reseptör agonisti WIN 55,212-2'nin 5-HT ile oluşturulan kaşıntıları artan dozlarda belirgin derece azalttığını göstermektedir. Bununla birlikte inisi serotonerjik ve noradrenerjik sistemlerin harap edilmesi kannabinoidlerin antipruritik aktivitesi üzerinde herhangi bir etki yapmadığını gözlemledik.

ÖZET

Kannabinoidlerin ağrı duyusundaki etkinliği yüzyıllardır bilinmektedir. Kaşıntı ve ağrı birçok ortak yönü olan iki duyu olduğu için, biz kannabinoid agonisti WIN 55,212-2'nin 5-HT ile oluşturulan kaşıntıyı azaltıp azaltmadığını ve inisi serotonerjik ve noradrenerjik yolların nörotoksik yıkımına WIN 55,212-2'nin antipruritik etkisine aracılık edip etmediğini göstermeyi amaçladık. Kaşınma davranışı Balb/c farede 5-HT'nin (50 µg/µl/fare) i.d. injeksiyonu ile oluşturuldu. Nörotoksin 5,7-DHT (50 µg/fare) ve 6-OHDA (20 µg/fare) omurilikte 5-HT ve NA'ı deplete etmek için i.t olarak uygulandı. WIN 55,212-2 (1, 3, 10 mg/kg, i.p.) doza bağlı olarak 5-HT kaynaklı kaşıntıyı azalttı. 5,7-DHT ve 6-OHDA tarafından serotonerjik ve noradrenerjik sistemlerin nörotoksik yıkımı WIN 55,212-2'nin antipruritik aktivitesini etkilemedi. Bizim bulgularımız kannabinoidlerin doza bağlı olarak 5-HT ile oluşturulan kaşıntıyı azalttığını ve inisi inhibitör yolların nörotoksik yıkımının antipruritik etkiye aracılık etmediğini göstermektedir.

Anahtar kelimeler: kannabinoid sistem; WIN 55,212-2; inisi inhibitör sistem; pruritus

REGULATION OF THE ANTIPRURITIC EFFECTS OF CANNABINOIDS BY DESCENDING SEROTONERGIC AND NORADRENERGIC SYSTEMS

SUMMARY

Cannabinoids are known to be effective in pain states for centuries. Since itch and pain are two sensations sharing a lot in common, we aimed to observe whether the cannabinoid agonist WIN 55,212-2 reduce 5-HT-induced scratching behavior and whether neurotoxic destruction of descending serotonergic and noradrenergic pathways mediate the antipruritic effect of WIN 55,212-2. Scratching behavior was induced by intradermal injection of 5-HT (50 $\mu\text{g}/50 \mu\text{l}/\text{mouse}$) to Balb/c mice. The neurotoxins 5,7-DHT (50 $\mu\text{g}/\text{mouse}$) and 6-OHDA (20 $\mu\text{g}/\text{mouse}$) are applied i.t. to deplete 5-HT and NA in the spinal cord. WIN 55,212-2 (1, 3, 10 mg/kg, i.p.) dose-dependently attenuated 5-HT-induced scratches. Neurotoxic destruction of neither serotonergic nor noradrenergic system by 5,7-DHT and 6-OHDA, respectively, had no effect on the antipruritic action of WIN 55,212-2. Our findings indicate that cannabinoids dose-dependently reduce 5-HT-induced scratching behavior and neurotoxic destruction of descending inhibitory pathways does not mediate this antipruritic effect.

Keywords: cannabinoid system; WIN 55,212-2; descending inhibition; pruritus

KAYNAKLAR

1. Horvath G, Joo G, Kekesi G, Farkas I, Tuboly G, Petrovszki Z, et al. Inhibition of itch-related responses at spinal level in rats. *Acta Physiol Hung* 2011;98(4):480-90.
2. Cevikbas F, Steinhoff M, Ikoma A. Role of Spinal Neurotransmitter Receptors in Itch: New Insights into Therapies and Drug Development. *Cns Neurosci Ther* 2011;17(6):742-9.
3. Kuraishi Y. Potential new therapeutic targets for pathological pruritus. *Biol Pharm Bull* 2013;36(8):1228-34.
4. Dogrul A, Seyrek M, Yalcin B, Ulugol A. Involvement of descending serotonergic and noradrenergic pathways in CB1 receptor-mediated antinociception. *Prog Neuro-Psychoph* 2012 2;38(1):97-105.
5. Gunduz O, Karadag HC, Ulugol A. Synergistic anti-allodynic effects of nociceptin/orphanin FQ and cannabinoid systems in neuropathic mice. *Pharmacol Biochem and Behav* 2011;99(4):540-4.
6. Seyrek M, Kahraman S, Deveci MS, Yesilyurt O, Dogrul A. Systemic cannabinoids produce CB1-mediated antinociception by activation of descending serotonergic pathways that act upon spinal 5-HT7 and 5-HT2A receptors. *Eur J Pharmacol* 2010 15;649(1-3):183-94.
7. Pryce G, Visintin C, Ramagopalan SV, Al-Izki S, De Faveri LE, Nuamah RA, et al. Control of spasticity in a multiple sclerosis model using central nervous system-excluded CB1 cannabinoid receptor agonists. *FASEB J* 2014;28(1):117-30.

8. Kalliomaki J, Annas P, Huizar K, Clarke C, Zettergren A, Karlsten R, et al. Evaluation of the analgesic efficacy and psychoactive effects of AZD1940, a novel peripherally acting cannabinoid agonist, in human capsaicin-induced pain and hyperalgesia. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2013;40(3):212-8.
9. Toth C, Mawani S, Brady S, Chan C, Liu CX, Mehina E, et al. An enriched-enrolment, randomized withdrawal, flexible-dose, double-blind, placebo-controlled, parallel assignment efficacy study of nabilone as adjuvant in the treatment of diabetic peripheral neuropathic pain. *Pain* 2012;153(10):2073-82.
10. Millan MJ. Descending control of pain. *Prog Neurobiol* 2002;66(6):355-474.
11. Yanarates O, Dogrul A, Yildirim V, Sahin A, Sizlan A, Seyrek M, et al. Spinal 5-HT₇ receptors play an important role in the antinociceptive and antihyperalgesic effects of tramadol and its metabolite, O-desmethyltramadol, via activation of descending serotonergic pathways. *Anesthesiology* 2010;112(3):696-710.
12. Gutierrez T, Nackley AG, Neely MH, Freeman KG, Edwards GL, Hohmann AG. Effects of neurotoxic destruction of descending noradrenergic pathways on cannabinoid antinociception in models of acute and tonic nociception. *Brain Res* 2003;987(2):176-85.
13. Spradley JM, Davoodi A, Cartens ML, Cartens E. Effects of acute stressors on itch and pain related behaviors in rats. *Pain* 2012;153(9):1890-7.
14. Andoh T, Gotoh Y, Kuraishi Y. Milnacipran inhibits itch-related responses in mice through the enhancement of noradrenergic transmission in the spinal cord. *J Pharmacol Sci* 2013;123,199-202.
15. Hachisuka J, Furue H, Furue M, Yoshimura M. Responsiveness of c neurons in rat dorsal root ganglion to 5-hydroxytryptamine-induced pruritic stimuli in vivo. *J Neurophysiol* 2010;104:271-9.
16. Helmchen C, Palzer C, Münte TM, Anders S, Sprenger A. Itch relief by mirror scratching. A psychophysical study. *PLoS ONE* 2013;8(12):e82756.
17. Kim K. Neuroimmunological mechanism of pruritus in atopic dermatitis focused on the role of serotonin. *Biomol Ther* 2012;20:506-12.
18. Ikoma A, Cevikbas F, Kempkes C, Steinhoff M. Anatomy and neurophysiology of pruritus. *Semin Cutan Med Surg* 2011;30(2):64-70.
19. Metz M, Grundmann S, Ständer S. Pruritus: an overview of current concepts. *Vet Dermatol* 2011;22:121-31.

20. Davidson S, Giesler GJ. The multiple pathways for itch and their interactions with pain. *Trends Neurosci* 2010;33:550-8.
21. Potenzi C, Udem BJ. Basic mechanisms of itch. *Clin Exp Allergy* 2012;42:8–19.
22. Yosipovitch G, Greaves MW, Schmelz M. Itch. *Lancet* 2003;361:690–4.
23. Twycross R, Greaves MW, Handwerker H, Jones EA, Libretto SE, Szepietowski JC, et al. Itch: scratching more than the surface. *Q J Med* 2003;96:7-26.
24. Kuypers DR. Skin problems in chronic kidney disease. *Nat Clin Pract Nephrol* 2009;5:157–70.
25. Yosipovitch G, Samuel LS. Neuropathic and psychogenic itch. *Dermatol Ther* 2008; 21:32–41.
26. McGlone F, Reilly D. The cutaneous sensory system. *Neurosci Biobehav Rev* 2010; 34:148–59.
27. Schmelz M, Schmidt R, Weidner C, Hilliges M, Torebjork HE, Handwerker HO. Chemical response pattern of different classes of C-nociceptors to pruritogens and algogens. *J Neurophysiol* 2003;89:2441–8.
28. Johanek LM, Meyer RA, Hartke T, Hobelmann JG, Maine DN, LaMotte RH, et al. Psychophysical and physiological evidence for parallel afferent pathways mediating the sensation of itch. *J Neurosci* 2007;27:7490–7.
29. Johanek LM, Meyer RA, Friedman RM, Greenquist KW, Shim B, Borzan J, et al. A role for polymodal C-fiber afferents in nonhistaminergic itch. *J Neurosci* 2008;28:7659–69.
30. Namer B, Carr R, Johanek LM, Schmelz M, Handwerker HO, Ringkamp M. Separate peripheral pathways for pruritus in man. *J Neurophysiol* 2008;100:2062–9.
31. Liu Q, Tang Z, Surdenikova L, Kim S, Patel KN, Kim A, et al. Sensory neuron-specific GPCR Mrgprs are itch receptors mediating chloroquine-induced pruritus. *Cell* 2009;139:1353–65.
32. Simone DA, Zhang X, Li J, Zhang JM, Honda CN, LaMotte RH, et al. Comparison of responses of primate spinothalamic tract neurons to pruritic and algogenic stimuli. *J Neurophysiol* 2004;91:213–22.
33. Davidson S, Zhang X, Yoon CH, Khasabov SG, Simone DA, Giesler GJ Jr. The itch-producing agents histamine and cowhage activate separate populations of primate spinothalamic tract neurons. *J Neurosci* 2007;27:10007–14.

34. Sun YG, Zhong-Qiu Z, Xiu-Li M, Jun Y, Xian-Yu L, Zhou-Feng C. Cellular basis of itch sensation. *Science* 2009;325,1531–4.
35. Darsow U, Drzezga A, Frisch M, Frank M, Florian W, Bartenstein P, et al. Processing of histamine-induced itch in the human cerebral cortex: A correlation analysis with dermal reactions. *J Invest Dermatol* 2000;115:1029–33.
36. Wallengren J. Neuroanatomy and neurophysiology of itch. *Dermatol Ther* 2005;18:292–303.
37. Metz M, Siebenhaar F, Maurer M. Mast cell functions in the innate skin immune system. *Immunobiology* 2008;213:251–60.
38. Shim WS, Oh U. Histamine-induced itch and its relationship with pain. *Mol Pain* 2008;4:29.
39. Imamachi N, Park GH, Lee H, Anderson DJ, Simon MI, Basbaum AI, et al. TRPV1-expressing primary afferents generate behavioral responses to pruritogens via multiple mechanisms. *Proc Natl Acad Sci USA* 2009;106:11330–5.
40. Shim WS, Tak MH, Lee MH, Kim M, Koo JY, Lee CH, et al. TRPV1 mediates histamine-induced itching via the activation of phospholipase A2 and 12-lipoxygenase. *J Neurosci* 2007;27:2331–7.
41. Bell JK, McQueen DS, Rees JL. Involvement of histamine H4 and H1 receptors in scratching induced by histamine receptor agonists in Balb C mice. *Br J Pharmacol* 2004;142:374–80.
42. Hossen MA, Sugimoto Y, Kayasuga R, Kamei C. Involvement of histamine H3 receptors in scratching behaviour in mast cell-deficient mice. *Br J Dermatol* 2003;149:17–22.
43. Hossen MA, Inoue T, Shinmei Y, Fujii Y, Watanabe T, Kamei C. Role of substance P on histamine H(3) antagonist-induced scratching behavior in mice. *J Pharmacol Sci* 2006;100:297–302.
44. Nojima H, Carstens E. 5-Hydroxytryptamine (5-HT)₂ receptor involvement in acute 5-HT-evoked scratching but not in allergic pruritus induced by dinitrofluorobenzene in rats. *J Pharmacol Exp Ther* 2003;306:245–52.
45. Akiyama T, Merrill AW, Carstens MI, Carstens E. Activation of superficial dorsal horn neurons in the mouse by a PAR-2 agonist and 5-HT: Potential role in itch. *J Neurosci* 2009;29:6691–9.

46. Reich A, Szepietowski JC. Opioid-induced pruritus: an update. *Clin Exp Dermatol* 2010;35:2–6.
47. Phan NQ, Bernhard JD, Luger TA, Ständer S. Antipruritic treatment with systemic μ -opioid receptor antagonists: a review. *J Am Acad Dermatol* 2010;63:680–8.
48. Phan NQ, Lotts T, Antal A, Bernhard JD, Ständer S. Systemic kappa opioid receptor agonists in the treatment of chronic pruritus: a literature review. *Acta Derm Venereol* 2012;92:555–60.
49. Andoh T, Yageta Y, Konno M, Yamaguchi-Miyamoto T, Takahata H, Nojima H, et al. Evidence for separate involvement of different μ -opioid receptor subtypes in itch and analgesia induced by supraspinal action of opioids. *J Pharmacol Sci* 2008;106:667–70.
50. Hosogi M, Schmelz M, Miyachi Y, Ikoma A. Bradykinin is a potent pruritogen in atopic dermatitis: a switch from pain to itch. *Pain* 2006;126:16–23.
51. Andoh T, Katsube N, Maruyama M, Kuraishi Y. Involvement of leukotriene B(4) in substance P-induced itch-associated response in mice. *J Invest Dermatol* 2001;117:1621–6.
52. Andoh T, Sakai K, Urashima M, Kitazawa K, Honma A, Kuraishi Y. Involvement of leukotriene B4 in itching in a mouse model of ocular allergy. *Exp Eye Res* 2012;98:97–103.
53. Costa R, Marotta DM, Manjavachi MN, Fernandes ES, Lima-Garcia JF, Paszcuk AF, et al. Evidence for the role of neurogenic inflammation components in trypsin-elicited scratching behaviour in mice. *Br J Pharmacol* 2008;154:1094–103.
54. Tsujii K, Andoh T, Lee JB, Kuraishi Y. Activation of proteinase-activated receptors induces itch-associated response through histamine-dependent and -independent pathways in mice. *J Pharmacol Sci* 2008;108:385–8.
55. Shimada SG, Shimada KA, Collins JG. Scratching behavior in mice induced by the proteinase-activated receptor-2 agonist, SLIGRL-NH₂. *Eur J Pharmacol* 2006;530:281–3.
56. Takaoka A, Arai I, Sugimoto M, Honma Y, Futaki N, Nakamura A, et al. Involvement of IL-31 on scratching behavior in NC/Nga mice with atopic-like dermatitis. *Exp Dermatol* 2006;15:161–7.
57. Sonkoly E, Muller A, Lauerma AI, Pivarcsi A, Soto H, Kemeny L, et al. IL-31: A new link between T cells and pruritus in atopic skin inflammation. *J Allergy Clin Immunol* 2006;117:411–7.

58. Liu T, Xu ZZ, Park CK, Berta T, Ji RR. Toll-like receptor 7 mediates pruritus. *Nat Neurosci* 2010;13:1460–2.
59. Cornelio DB, Roesler R, Schwartsmann G. Gastrin-releasing peptide receptor as a molecular target in experimental anticancer therapy. *Ann Oncol* 2007;18: 1457–66.
60. Ulugol A. The endocannabinoid system as a potential therapeutic target for pain modulation. *Balkan Med J* 2014;31:115-20.
61. Fine PG, Rosenfeld MJ. The endocannabinoid system, cannabinoids, and pain. *Rambam Maimonides Med J* 2013;4(4):e0022.
62. Niesink RJM, Laar MW. Does cannabidiol protect against adverse psychological effects of THC? 2013;4:130-1.
63. Grotenhermen F, Müller-Vahl K. The therapeutic potential of cannabis and cannabinoids. *Dtsch Arztebl Int* 2012;109(29–30):495–501.
64. Lee H. Functional activity of the cannabinoid 1 receptor is not affected by opioid antagonists in the rat brain. *Korean J Anesthesiol* 2013;64(3):257-61.
65. Battista N, Sabatino AD, Tommaso MD, Biancheri P, Rapino C, Giuffrida P, et al. Altered expression of type-1 and type-2 cannabinoid receptors in celiac disease. *PLoS ONE* 2013;8(4): e62078.
66. Alphan ET, Yılmaz N. Endokannabinoid sistemin, enerji metabolizması ve obeziteye etkisi. *Marmara Med J* 2007;20(3);202-14.
67. Yoshimura M, Furue E. Mechanisms for the anti-nociceptive actions of the descending noradrenergic and serotonergic systems in the spinal cord. *J Pharmacol Sci* 2006;101,107–17.
68. Liu H, Yan WW, Lu XX, Zhang XL, Wei JQ, Wang XY, et. al. Role of the cerebrospinal fluid-contacting nucleus in the descending inhibition of spinal pain transmission. *Exp Neurology* 2014;261:475-85.
69. Kayaalp SO, Uzbay T. Santral sinir sistemi farmakolojisinin temelleri. Kayaalp SO (Editör). Rasyonel tedavi yönünden tıbbi farmakoloji’de 12. Baskı. Ankara: Pelikan Yayıncılık; 2009.s. 634.
70. Viguier F, Michot B, Hamon M, Bourgoin S. Multiple roles of serotonin in pain control mechanisms-Implications of 5-HT7 and other 5-HT receptor types. *Eur J Pharmacol* 2012;38:97-105.
71. Pertovaara A. Noradrenergic pain modulation. *Prog Neurobiol* 2006;8:53–83.

72. Tosun NC, Gunduz O, Ulugol A. Attenuation of serotonin-induced itch responses by inhibition of endocannabinoid degradative enzymes, fatty acid amide hydrolase and monoacylglycerol lipase. *J Neural Transm* 2014;DOI 10.1007/s00702-014-1251-x.
73. Janoyan JJ, Crim JL, Darmani NA. Reversal of SR 141716A-induced head-twitch and ear-scratch responses in mice by delta(9)-THC and other cannabinoids. *Pharmacol Biochem Behav* 2002;71(1-2):155-62.
74. Li YY, Yuece B, Cao HM, Lin HX, Lv S, Chen JC. Inhibition of p38/Mk2 signaling pathway improves the anti-inflammatory effect of WIN55 on mouse experimental colitis. *Lab Invest* 2013;93:322–33.
75. Fitzgerald PJ. Elevated norepinephrine may be a unifying etiological factor in the abuse of a broad range of substances: alcohol, nicotine, marijuana, heroin, cocaine, and caffeine. *Subst Abuse* 2013;7:171–83.
76. Porter CC, Totaro JA, Stone CA. Effect of 6-hydroxydopamine and some other compounds on the concentration of norepinephrine in the hearts of mice. *J Pharmacol Exp Ther* 1963;140:308-16.
77. Zigmond MJ, Hastings TG, Abercrombie ED. Neurochemical responses to 6-hydroxydopamine and l-dopa therapy: implications for parkinson's disease. *Ann N Y Acad Sci* 1992;648:71-86.
78. Göthert M. Serotonin discovery and stepwise disclosure of 5-HT receptor complexity over four decades. Part I. General background and discovery of serotonin as a basis for 5-HT receptor identification. *Pharmacol Rep* 2013;65:771-86.
79. Collins LM, Gavin AM, Walsh S, Sullivan AM, Wyatt SL, O’Keeffe GW, et al. Expression of endogenous Mkp1 in 6-OHDA rat models of Parkinson’s disease. *Springerplus* 2014;3:205.
80. Choia S, Jonak E, Fernstrom JD. Serotonin reuptake inhibitors do not prevent 5,7-dihydroxytryptamine induced depletion of serotonin in rat brain. *Brain Res* 2004;1007:19–28.
81. Hylden JL, Wilcox GL. Intrathecal morphine in mice: a new technique. *Eur J Pharmacol* 1980;67(2-3):313-6.
82. Schlosburg JE, Boger DL, Cravatt BF, Lichtman AH. Endocannabinoid modulation of scratching response in an acute allergenic model: A new prospective neural therapeutic target for pruritus. *J Pharmacol Exp Ther* 2009;329(1):314-23.

83. Kusakabe K, Iso Y, Tada Y, Sakagami M, Morioka S, Chomei N, et al. Selective CB2 agonists with anti-pruritic activity: Discovery of potent and orally available bicyclic 2-pyridones. *Bioorg Med Chem* 2013;21(11):3154–63.
84. Maekawa T, Nojima H, Kuraishi Y, Aisaka K. The cannabinoid CB2 receptor inverse agonist JTE-907 suppresses spontaneous itch-associated responses of NC mice, a model of atopic dermatitis. *Eur J Pharmacol* 2006;542(1-3):179-83.
85. Darmani NA, Pandya DK. Involvement of other neurotransmitters in behaviors induced by the cannabinoid CB1 receptor antagonist SR 141716A in naive mice. *J Neural Transm* 2000;107(8-9):931-45.
86. Schlosburg JE, O'Neal ST, Conrad DH, Lichtman AH. CB1 receptors mediate rimonabant-induced pruritic responses in mice: investigation of locus of action. *Psychopharmacology* 2011;216(3):323-31.
87. Ward SJ, Lefever TW, Rawls SM, Whiteside GT, Walker EA. Age-dependent effects of the cannabinoid CB1 antagonist SR141716A on food intake, body weight change, and pruritus in rats. *Psychopharmacology* 2009;206:155–65.
88. Dvorak M, Watkinson A, McGlone F, Rukwied R. Histamine induced responses are attenuated by a cannabinoid receptor agonist in human skin. *Inflamm Res* 2003;52(6):238-45.
89. Gingold AR, Bergasa NV. The cannabinoid agonist WIN55,212-2 increases nociception threshold in cholestatic rats: implications for the treatment of the pruritus of cholestasis. *Life Sci* 2003;73(21):2741-7.
90. Spradley JM, Davoodi A, Gee LB, Carstens MI, Carstens E. Differences in peripheral endocannabinoid modulation of scratching behavior in facial vs. spinally-innervated skin. *Neuropharmacology* 2012;63(4):743-9.
91. Gotoh Y, Omori Y, Andoh T, Kuraishi Y. Tonic inhibition of allergic itch signaling by the descending noradrenergic system in mice. *J Pharmacol Sci* 2011;115(3):417-20.
92. Gotoh Y, Andoh T, Kuraishi Y. Noradrenergic regulation of itch transmission in the spinal cord mediated by alpha-adrenoceptors. *Neuropharmacology* 2011;61(4):825-31.
93. Gotoh Y, Andoh T, Kuraishi Y. Clonidine inhibits itch-related response through stimulation of alpha(2)-adrenoceptors in the spinal cord in mice. *Eur J Pharmacol* 2011;650(1):215-9.
94. Hung KC, Wu HE, Mizoguchi H, Leitermann R, Tseng LF. Intrathecal treatment with 6-hydroxydopamine or 5,7-dihydroxytryptamine blocks the antinociception induced by

- endomorphin-1 and endomorphin-2 given intracerebroventricularly in the mouse. *J Pharmacol Sci* 2003;93(3):299-306.
95. Dogrul A, Seyrek M, Akgul EO, Cayci T, Kahraman S, Bolay H. Systemic paracetamol-induced analgesic and antihyperalgesic effects through activation of descending serotonergic pathways involving spinal 5-HT7 receptors. *Eur J Pharmacol* 2012;677(1-3):93-101.

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1. Kaşıntının nöral iletimi.....	5
Şekil 2. THC ve CBD'nin kimyasal yapısı.....	15
Şekil 3. 5-Hidroksitriptaminin kimyasal yapısı.....	19
Şekil 4. WIN 55,212-2'nin kimyasal yapısı.....	19
Şekil 5. 6-Hidroksidopaminin kimyasal yapısı.....	20
Şekil 6. 5,7-Dihidroksitriptaminin kimyasal yapısı.....	21
Şekil 7. Farenin ense bölgesi traşı.....	25
Şekil 8. Subkutan injeksiyon.....	25
Şekil 9. Farenin arka ayağı ile ense bölgesini kaşması.....	26
Şekil 10. Deney düzeneği ve kamera ile kaşıntı sayımı.....	26
Şekil 11. İntratekal injeksiyon.....	27
Şekil 12. Likid kromatografi-uçuş zamanlı kütle spektroskopisi cihazı.....	27
Şekil 13. Artan dozlarda WIN 55,121-2'nin antipruritik etkisi.....	29
Şekil 14. WIN 55,212-2'nin antipruritik etkisinde inisi serotonerjik sistemin rolü.....	30
Şekil 15. WIN 55,212-2'nin antipruritik etkisinde inisi noradrenerjik sistemin rolü.....	31
Şekil 16. Lomber segment omurilik arka kök serotonin düzeyleri.....	32
Şekil 17. Lomber segment omurilik arka kök noradrenalin düzeyleri.....	33

ÖZGEÇMİŞ

1990 yılında İstanbul'un Fatih ilçesinde doğdum. İlköğretim ve ortaöğretimimi İstanbul'da tamamladıktan sonra, lisans eğitimimi Denizli Pamukkale Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji bölümünde tamamladım. 2012 yılında Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalında yüksek lisans programına başladım.

15 Kasım 2012-2014 tarihleri arasında 112S143 nolu 'Akut ve kronik kannabinoid uygulamasının sıçan beyin bölgelerinde nosiseptin/orfanin FQ düzeyleri üzerine etkisi ve antinoseptif etkisine tolerans gelişimiyle ilişkisi' adlı TÜBİTAK PROJESİNDE bursiyer olarak görev aldım.

EKLER

Ek 1

T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU KARARLARI

EDİRNE

Oturum Sayısı: 01

Karar Tarihi: 25.01.20113

KARAR NO: 2013.01.21

Yürütücülüğünü Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi öğretim üyesi Prof. Dr. Ahmet ULUGÖL'ün yaptığı TÜHDYEK-2013/21 protokol nolu "Kannabinoidlerin antipruritik etkilerinde inisi serotonerjik ve noradrenerjik sistemlerin rolü (*Regulation of the antipruritic effects of cannabinoids by descending serotonergic and noradrenergic systems*)," başlıklı çalışma hakkında görüşüldü; araştırmanın amaç, yaklaşım, gereç ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmesi sonucunda; Hayvan Hakları Evrensel Bildirgesi ve etik kurallara uygun olarak hazırlandığına ve çalışmanın yapılabileceğine mevcudun oy birliği ile karar verilmiştir.

Ünvanı/Adı/Soyadı	Araştırma ile İlişki	Toplantı Katılımı	İmza
Doç.Dr. Burhan AKSU Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi	<input type="checkbox"/> var <input checked="" type="checkbox"/> yok	<input type="checkbox"/> evet <input checked="" type="checkbox"/> hayır	
Yrd.Doç. Dr. Hayati ARDA Fen-Edebiyat Fakültesi Öğretim Üyesi	<input type="checkbox"/> var <input checked="" type="checkbox"/> yok	<input checked="" type="checkbox"/> evet <input type="checkbox"/> hayır	
Vet.Hek. Ziya ÇUKUR Veteriner Hekim	<input type="checkbox"/> var <input checked="" type="checkbox"/> yok	<input type="checkbox"/> evet <input checked="" type="checkbox"/> hayır	
Hüseyin KOÇ Sivil Toplum Örgütü Üyesi Sivil Üye	<input type="checkbox"/> var <input checked="" type="checkbox"/> yok	<input type="checkbox"/> evet <input checked="" type="checkbox"/> hayır	
Yrd.Doç.Dr. Beytullah ÖZKAN Fen-Edebiyat Fakültesi Öğretim Üyesi	<input type="checkbox"/> var <input checked="" type="checkbox"/> yok	<input checked="" type="checkbox"/> evet <input type="checkbox"/> hayır	
Doç.Dr. Y. Atakan SEZER Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi	<input type="checkbox"/> var <input checked="" type="checkbox"/> yok	<input checked="" type="checkbox"/> evet <input type="checkbox"/> hayır	
Doç. Dr. Enis ULUÇAM Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi	<input type="checkbox"/> var <input checked="" type="checkbox"/> yok	<input type="checkbox"/> evet <input checked="" type="checkbox"/> hayır	
Yrd.Doç.Dr.Hakan GÜRKAN Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi	<input type="checkbox"/> var <input checked="" type="checkbox"/> yok	<input checked="" type="checkbox"/> evet <input type="checkbox"/> hayır	
Osman GÜLTEKİN Sivil Üye	<input type="checkbox"/> var <input checked="" type="checkbox"/> yok	<input type="checkbox"/> evet <input checked="" type="checkbox"/> hayır	