

**T.C.  
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI**

**DELİ BALIN (GRAYANOTOXİN) AKUT VE KRONİK AĞRI DAVRANIŞI  
ÜZERİNE ETKİSİ**

**ACİL TIP ANABİLİM DALI UZMANLIK TEZİ**

**Dr. İsmet ERAYDİN**

**Trabzon - 2011**

**T.C.  
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI**

**DELİ BALIN (GRAYANOTOXİN) AKUT VE KRONİK AĞRI DAVRANIŞI  
ÜZERİNE ETKİSİ**

**ACİL TIP ANABİLİM DALI UZMANLIK TEZİ**

**Dr. İsmet ERAYDİN**

**Tez Danışmanı  
Doç. Dr. Abdülkadir GÜNDÜZ**

**Trabzon - 2011**

## TEŞEKKÜR

Öncelikle uzmanlık eğitimim boyunca bana her konuda desteğini esirgemeyen ve tezimin hazırlanmasında çok değerli yardımları bulunan değerli hocalarım Doç. Dr. Abdulkadir GÜNDÜZ, Prof. Dr. Ahmet AYAR, Yrd. Doç. Dr. Süleyman TÜREDİ ve Yrd. Doç. Dr. Süha TÜRKMEN'e; birlikte çalışmış olmaktan memnuniyet duyduğum ve bana önemli katkıları bulunan Uzm. Dr. Yunus KARACA ve eğitimimi birlikte aldığım arkadaşlarıma ve eğitimim süresince bilgi ve tecrübelerinden istifade ettiğim tüm hocalarıma, yorucu ve bir o kadarda keyifli geçen ihtisasım sırasında beraber görev yaptığım tüm araştırma görevlisi, hemşire, teknisyen ve diğer tüm sağlık personeli arkadaşlarıma ve tüm zorlukları aşmamda her zaman yanımda olan sevgili eşim Esin ERAYDİN ve çocuklarım Asım Enes, Rana ve Nilgün'e ve kıymetli aileme özellikle tüm eğitim yaşamım boyunca arkamda duran annem Yeter ERAYDİN'a maddi ve manevi desteğinden ötürü sevgili babam Yusuf ERAYDİN'a, benim yetişmemde ve büyümemde büyük rol oynayan ablam Kebire TİRYAKİ'ye, diğer ablam Günere, abim Yaşar ERAYDİN ve Yılmaz TİRYAKİ'ye gönülden teşekkür ederim.

Dr. İsmet ERAYDİN

## İÇİNDEKİLER

	<b>Sayfa No</b>
TEŞEKKÜR .....	ii
İÇİNDEKİLER.....	iii
TABLO LİSTESİ .....	v
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	vi
GRAFİKLER LİSTESİ .....	vii
KISALTMALAR LİSTESİ.....	viii
1. GİRİŞ VE AMAÇ .....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
Deli Bal Tarihi .....	4
Rhododendronlar .....	7
İnsanlar İçin Toksik Olan Rhododendron.....	9
Grayanotoksin.....	9
Deli Bal Zehirlenmesinde Klinik.....	12
Ağrı.....	13
Diabetes Mellitus .....	16
Diyabetik Nöropati .....	18
Diyabetik Polinöropati Patogenezinde Polyol Yolu Aktivasyonu.....	21
Diyabetik Nöropati Kliniği.....	24
Proksimal Diyabetik Nöropati (Diyabetik Amyotrofi, Femoral Nöropati) .....	25
Diyabetik Nöropatide Tanı ve Ayırıcı Tanı.....	27
Morfolojik ve Biyokimyasal Ölçümler.....	28

Diyabetik Ratlarda Ağrılı Nöropati .....	28
Deneysel Ağrı Modelleri .....	29
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	30
In Vivo Plantar Analjezimetre Testinde Ağrı Eşiğinin Belirlenmesi (Davranışsal Ağrı Testi) .....	30
Plantar Analjezimetre Testi .....	31
Diyabetik Farelerde Plantar Analjezimetre Testi .....	32
4. BULGULAR .....	34
4.1. Farelerin Ağırlık Ölçümü.....	34
Kan Glukoz Ölçümleri.....	35
Ağrı Eşiği Değerleri (Latans) .....	37
5. TARTIŞMA.....	44
6. SONUÇLAR.....	51
7. ÖZET .....	52
8. SUMMARY .....	54
9. KAYNAKLAR.....	56

**TABLO LİSTESİ**

	<b>Sayfa No</b>
Tablo 1. İnsana Toksik Grayanotoksin Kaynakları .....	9
Tablo 2. Diyabetik Nöropatide Olası Sorumlu Mekanizmalar .....	20
Tablo 3. Diyabetik Nöropatinin Sınıflandırılması .....	23
Tablo 4. Farelerin Ağırlık Ölçümü .....	34
Tablo 5. Kan Glukoz Ölçümleri.....	36
Tablo 6. Normoglisemik Grup (Akut Ağrı).....	37
Tablo 7. Diabetik Nöropati Grubu .....	39

**ŞEKİLLER LİSTESİ**

	<b>Sayfa No</b>
Şekil 1. A) Rhododendron Luteum (Sarı) B) Rhododendron Ponticum (Mor) Çiçekleri.....	8
Şekil 2. Grayanotoxinin Kimyasal Yapısı: Grayanotoksin I, II ve III'ün Genel Kimyasal Yapısı .....	12
Şekil 3. Duyusal Nöron Tipleri.....	15
Şekil 4. Polyol Yolunun Şeması .....	21

**GRAFİKLER LİSTESİ**

	<b>Sayfa No</b>
Grafik 1. Fare Vücut Ağırlığı Grafiği .....	35
Grafik 2. Kan Glukoz Ölçümleri.....	36
Grafik 3. Akut Ağrı Grubunda Latans Ölçümü (0.05 mg/kg GTX Sonrası) .....	38
Grafik 4. Akut Ağrı Grubunda Latans Ölçümü (0.1 mg/kg GTX Sonrası) .....	38
Grafik 5. Akut Ağrı Grubunda Latans Ölçümü (0.2 mg/kg GTX Sonrası) .....	39
Grafik 6. Diyabetik Nöropati Grubunda Latans Ölçümü (0.05 mg/kg GTX Sonrası).....	40
Grafik 7. Diyabetik Nöropati Grubunda Latans Ölçümü (0.1 mg/kg GTX Sonrası).....	41
Grafik 8. Diyabetik Nöropati Grubunda Latans Ölçümü (0.2 mg/kg GTX Sonrası).....	41
Grafik 9. Kontrol Grubu Ağrı Latans Ölçümü.....	42



**KISALTMALAR LİSTESİ**

<b>Rh</b>	: Rhododendron
<b>R. ponticum</b>	: Rhododendron ponticum
<b>R. luteum</b>	: Rhododendron luteum
<b>TAD</b>	: Trisiklik antidepresanlar
<b>SSRI</b>	: Selektif serotonin geri alım inhibitörleri
<b>GTX</b>	: grayanatoksin
<b>AV</b>	: Atrioventriküler
<b>EKG</b>	: Elektrokardiografi
<b>ACLS</b>	: İleri Kardiyak Yaşam Desteği
<b>KAH</b>	: Koroner Arter Hastalığı
<b>SF</b>	: Serum Fizyolojik
<b>PAM</b>	: Pralidoksim
<b>ACh</b>	: Asetilkolin
<b>AChE</b>	: Asetilkolinesteraz
<b>M.Ö</b>	: Milattan Önce
<b>GRAY</b>	: Grayanotoksin
<b>ADA</b>	: Amerikan Diyabet Cemiyeti
<b>AGE</b>	: Advanced Glikosylation End Product
<b>AIDS</b>	: Edinsel İmmun Yetmezlik Sendromu
<b>AKŞ</b>	: Açlık Kan Şekeri
<b>Akt</b>	: Protein Kinaz B

<b>ALADIN</b>	: Alfa Lipoic Asit In Diabetic Neuropathy
<b>ARİ</b>	: Aldoz Redüktaz İnhibitörleri
<b>CAM P-Selektin</b>	: Cell Adhesion Molekül P-Selektin
<b>COX</b>	: Siklooksigenaz x
<b>DM</b>	: Diabetes Mellitus
<b>DN</b>	: Diyabetik Nöropati
<b>DRG</b>	: Dorsal Root Ganglion
<b>DSÖ</b>	: Dünya Sağlık Örgütü
<b>DTR</b>	: Derin Tendon Refleksi
<b>EMG</b>	: Elektromiyelografi
<b>EPO</b>	: Evening Primrose Oil- Cuha Yağı
<b>GABA</b>	: Gama Amino Bütirik Asit
<b>GLA</b>	: Gamma Linoleik Asit
<b>Glu</b>	: Glutamat
<b>GLUT</b>	: Glikoz Taşıyıcı Protein
<b>HbA1c</b>	: Hemoglobin A1c
<b>IAPS</b>	: Uluslararası Ağrı Araştırmaları Derneği
<b>IDDM</b>	: İnsüline Bağımlı Diabetes Mellitus
<b>IFG</b>	: Bozulmuş Açlık Glisemisi
<b>Ig</b>	: İmmünoglobülin
<b>İP</b>	: İntraperitoneal
<b>İV</b>	: İntravenöz
<b>KİDP</b>	: Kronik Demiyelinizan Polinöropati
<b>LANSS</b>	: Leeds Assesment of Neuropathic Symphoms and Signs

<b>NADH</b>	: İndirgenmiş Nikotinamid Adenin Dinükleotid
<b>NADPH</b>	: İndirgenmiş Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat
<b>NDS</b>	: Nöropati Bozukluk Skoru
<b>Na-K ATP az</b>	: Sodyum- Potasyum Adenozidin Trifosfataz
<b>NIDDM</b>	: İnsüline Bağımlı Olmayan Diabetes Mellitus
<b>NMDA</b>	: N-Metil-D-Aspartat
<b>NO</b>	: Nitrik Oksit
<b>NSS</b>	: Nöropati Semptom Skoru
<b>OGTT</b>	: Oral Glikoz Tolerans Testi
<b>PKC</b>	: Protein Kinaz-C
<b>PNP</b>	: Periferik Nöropati
<b>STZ</b>	: Streptozosin
<b>TÜRDEP</b>	: Türkiye Diyabet Epidemiyoloji Çalışması
<b>VEGF</b>	: Vasküler Endotel Büyüme Faktörü
<b>VAS</b>	: Visual Analog Skoru

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Deli Bal, Rhododendron (Rh.) familyası bitkilerden beslenen arıların ürettiği ve grayanotoksin içeren bala verilen addır. Türkiye başta olmak üzere İspanya, Portekiz, Japonya, Brezilya, A.B.D. Nepal ve İngiliz Kolombiyası'nda Rhododendron familyasının 750 den fazla türü bulunur (1).

Toksin ihtiva eden türlerin en bilinenleri Türkiye'de Karadeniz kıyısı boyunca uzanan dağların denize bakan yamaçlarında yetişen Rh. ponticum ve Rh. Flavum'dur. Bu bitkiler Mayıs sonu ve Haziran başında açmakta olup bu dönem yağmursuz geçtiğinde arılar için uygun bal üretim kaynağı oluşturmaktadırlar. Eğer arı kovanları çiçeklerin açtığı dönemde çiçek yoğun bölgede bulunursa ve bu açma dönemi yağmursuz geçerse elde edilen balda grayanotoksin oranı yüksek olur. Bu durum balın zehirlenme ihtimalini artırır (2).

Grayanotoksinler, hücre membranlarındaki sodyum kanallarına bağlanarak toksik etkilerini gösterirler. Uyarılmış membranlarda sodyum iyonlarının permeabilitesini arttırmaları (3).

Deli bal hipertansif hastalarda, iştah açıcı olarak, cinsel gücü artırıcı olarak, sedatif etkisinden dolayı depresyonlularda, ağrı kesici olarak eklem ağrılarında, gastrointestinal sistem ağrılarında alternatif tıp çözümü olduğuna inanılmaktadır (4,5).

Deli balın üzerinde etkili olduğuna inanılan ağrı; nöropatik ve nosiseptif ağrı olmak üzere iki başlık altında sınıflandırabiliriz. Nosiseptif ağrı, periferik nosiseptörlerin

aktivasyonu sonucu gelişen ve ağrılı stimulusa karşı korunma mekanizması oluşturan bir alarm sistemidir (6).

Nöropatik ağrı, Uluslararası Ağrı Çalışmaları Birliği (International Association for the Study of Pain) tarafından; sinir sistemindeki birincil bir lezyonun ya da işlev bozukluğunun başlattığı ya da yol açtığı ağrı'' olarak tanımlanmıştır (7).

Daha sonra araştırmacılar bu tanımda yer alan işlev kaybı teriminin anlam kargaşasına yol açtığını öne sürmüşlerdir. Nöropatik ağrının periferik ya da merkezi sinir sistemindeki ya da her ikisindeki bir lezyondan kaynaklanan duyuşal semptom ve bulgulara yol açan ağrı olarak tanımlanmasını önermişlerdir (8).

Nöropatik ağrı, tüm dünyada milyonlarca insanı etkilemektedir. Hastalar; allodini, parestezi, dizestezi, hiperaljezi, sürekli yanıcı ağrı, paroksizmal zonklayıcı veya batıcı ağrı semptomlarından biri yada birkaçından yakınmaktadırlar (6).

Hastalar için etkili olduğu kanıtlanmış terapötik bir ilaç ya da ilaç grubu yoktur. Farmakolojik tedavilerin çoğunluğu nöropatik ağrının oluşumundan sorumlu hızlı Na<sup>+</sup> kanalları ve ektopik deşarjları azaltmaya odaklanmıştır. Bu bozukluklar ya Na<sup>+</sup> kanal antagonistleri ile ya da spinal nörotransmisyonu inhibe eden ilaçlarla düzeltilir. Deli bal toksisitesindeki etken madde olan grayanotoxinin Na kanalları üzerinden etkin olduğu bilinmektedir(9)

Bununla birlikte mevcut kanıtlar bir ilacın diğerine üstünlüğünü desteklememektedir. İlaç seçimi deneyime ve beklenen yan etkilere göre yapılabilir.

Nöropatik ağrının bir çok nedeni vardır. Bu çalışmada diabetik nöropatili vakalardaki ağrı üzerine çalışıldı.

Deli balın ağrı üzerindeki etkisini gösteren çalışma henüz yoktur. Bu deneysel çalışma ile deli balın(grayanatoksin) akut ve kronik ağrı (diabetik nöropatik ağrı) üzerine etkisi olup olmadığının araştırılması amaçlandı.

## 2. GENEL BİLGİLER

### Deli Bal Tarihi

Deli bal zehirlenmesi, özellikle Türkiye’de Karadeniz Bölgesinde sık rastlanan bir hastalıktır. Bununla birlikte, Amerika Birleşik Devletleri (ABD), Kore ve Avusturya’dan bildirilen vakalar vardır (10).

Deli bal rengi genelden daha kırmızı-kahverengidir ve geç şekerlenme özelliğine sahiptir. Asla koyulaşmaz ve keskin özel bir koku salar. Kaynatılırsa ve uzun süre bekletilirse toksisitesinin kaybolacağı düşünüldüğünden, halk arasında bu balın sütle kaynatılıp köpüğü alınmak suretiyle zehirsiz hale geleceği yaygın bir inançtır. (5) Bu bal ülkemizde, halk arasında, deli bal, tutan bal, kara ağı veya acı bal olarak bilinir. Tıbbi literatürün yanı sıra tarih kitaplarında da konu hakkında dikkat çekici bilgiler bulunmaktadır.

Deli bal zehirlenmesi ilk defa MÖ 401’de, Atinalı tarihçi ve ordu komutanı olan Xenophon tarafından tariflenmiştir (3,12).

Türkçe çeviri adı “Onbinlerin Dönüşü” olarak bilinen ve deli bal zehirlenmesinin etkisinin ilk olarak anlatıldığı Xsenefon’un “Sirus’un Sevki” günlüğünde şu dikkat çekici hikâye yer almaktadır. “Colchianların dağına çıkıp yerlilerini bozguna uğrattıktan sonra, Yunanlılar onların köylerinde kamp kurdular. Orada onlara garip gelen bir şey yoktu, ama arı kovanlarının çokluğu alışılmıştın dışındaydı ve bu bal peteklerinden yiyen askerlerin

hepsi şuurlarını kaybettiler, kustular ve ishal oldular. Ayrıca hiç birisi ayakta duramıyordu; sadece biraz yiyenler aşırı sarhoş, fazla yiyenler çıldırma noktasında, bazıları ise ölüm derecesindeydi. Baldan yiyen askerlerin hepsi yere yığılıp kaldılar. Orada sanki büyük bir yenilgi olmuştu ve genel bir hüznün ve çöküntü hali vardı. Ertesi gün onlardan hiçbiri ölü bulunmadı ve şuurlarını aşağı yukarı bir önceki gün kaybettikleri zamanla eş değerli olarak geri kazandılar, üçüncü ve dördüncü günde ise sanki bir beden eğitimi yapmışçasına ayağa kalktılar” (13).

Yine deli bal MÖ 67 de Kral Mithradates IV tarafından, Kuzeydoğu Anadolu’da Pompeyin ordularına karşı kullanılmıştır. Başdanışman Yunanlı tabip Kateus’un tavsiyesi üzerine, ilerleyen Romalıların yolu üzerine içi deli bal ile dolu petekler yerleştirilmiş ve taktiksel bir geri çekilme yapmıştır. Bu peteklerden yiyen Romalılar bitkin düşerek kolayca etkisiz hale getirilmiştir.

Ondokuzuncu yüzyılda Avrupa ve Kuzey Amerika’da deli bal zehirlenme vakaları bildirilmiştir. 1896’da Amerikan eczacılar birliğinin yıllık toplantısında konuşan Kebler, ABD’deki deli bal zehirlenmesi vakalarını literatüre kazandırmıştır. Konuşmasında, “ Deli eden bal ” Pontus’un aynı bölgesinde olan Sanni kırsalında delilik meydana getiren bir bal cinsine rastlanmıştır ve bu bal “Maenomenon” olarak adlandırmıştır. Bu zehir genel olarak ormanları bol olan yerdeki Rhododenron (orman gülü) çiçeklerine atfedilmiştir. “İlaveten Persis’te ve Gaetulia’da, Massaesyli ülkesinin sınırı üzerindeki Mauritania Ceasariansis’in bir bölgesinde zehirli arı kovanları bulundu ve bazıları, ilaveten, sadece kısmi olarak aşırı ölçüde beklenmedik zarar verici etkiler meydana getirdi, balın koyu kırmızı rengi kendi zararlı niteliklerini zamanında fark ettirmediğini bildirmiştir. Bu yayında; Princeton ve New Jersey’de görülen 8 adet zehirlenme vakası anlatılmıştır. Kebler kendi vakalarının yanı sıra daha önce yapılmış diğer çalışmalara da yer vermiştir. Kebler’e göre, Barton, deli



bal zehirlenmesinin etkilerini rapor eden ilk Amerikalıdır. Barton, bulgularını ilk defa Amerikan Filozoflar Topluluğunda 1794'de okumuş, 1802'de de bir çalışmasında bunları yayınlamıştır. Bu vaka 54 yaşında bal yiyen bir kadın hastaydı. Alnında yanma, yüzünde solma ve solukluk, nabızlarında düzensizlik şikâyeti ile hastaneye başvurdu (15).

Kebler ayrıca Colema'nın 1853'deki çalışmasından da bahsetmektedir. Colema'nın çalışmasına New Jersey'den 14, Branchville'den 20 hasta anlatılmıştır. Bu çalışmaya göre New Jersey'de 1, Branchville'de 3 hasta zehirlenme sonucu ölmüştür. Ek olarak 1891 yılında Plugge, Ericaceae familyasından birçok bitki üzerinde çalışma yapmış ve bu bitkilerdeki aktif maddenin andromedotoxin (grayanatoksin) olduğunu keşfetmiştir (15).

British Medical Journal'ın 1999 yılında yeniden basılan 1899 yılı makalesi de, tipik bir deli bal zehirlenme vakası üzerinedir. Dioscorides, Diyotaras Siculus ve Aristotle, Heraklea Pontica'nın (rhododendron türüdür) yılın belli zamanlarında toplanan balının meydana getirdiği deli edici etkilerden bahsederler. J.P. Tournefort zehirli balın Chamearhododenros Pontica – maxime (Azalea Ponticadan) kaynaklandığını tanımlar ve bu baldan kim yerse onu aptallaştırır der (15)Türkiye'de deli bal ile ilgili ilk araştırma Bucak tarafından yapılmıştır. Bucak balı mikroskopik olarak incelemiş ve balın içinde Rhododendron polenlerini izole etmiştir (13). Biberoglu ve arkadaşları 1984 ile 1986 yılları arasında deli baldan zehirlenen 16 hastayı incelemiş, bu ballarda grayanotoksin tespit etmiştir (16).

1991 yılında Onat ve arkadaşları ratların peritonuna deli bal enjekte etmişler ve bu ratların kalp hızlarının azaldığını ayrıca solunumlarının yüzeyelleştiğini tespit etmişlerdi (17).

Özhan ve arkadaşları 2002 yılında acil servislerine başvuran bal zehirlenmesi düşündükleri 19 vakayla retrospektif bir çalışma yapmışlardır. 19 vakanın 15'inde sinüs

bradikardisi, 4'ünde ise AV tam blok tespit etmişlerdir. Hastaların 30–180 mg arasında bal yedikleri tespit edilmiş olup, hepsi 2–9 saat arasında 0,5–2 mg atropine cevap vermişlerdir ve 24 saat içerisinde kan basınçları düzelmiştir (18).

2007 yılında Gündüz ve arkadaşların bildirdiği deli bal zehirlenmesine maruz kalan hastada ise kardiyak arrest gelişmiş, atropin ve sıvı resustasyonundan sonra pacemaker takılmış ve yoğun bakıma yatırılmıştır (19). Deli bal zehirlenmesi nonspesifik bradikardi, sinus bradikardisi, nodal ritim, 2. derece AV blok, komplet AV blok ve asistoli gibi çok çeşitli disritmilere neden olabilir. Günümüze kadar yapılan 154 vakalık hasta serisi incelendiğinde en sık sebep olduğu disritmi türü sinus bradikardisidir (%64,9).

### **Rhododendronlar**

Fundagiller (Ericaceae) grubuna ait olan orman güllerinin bilimsel adı (Rhododendron), gül ağacı anlamına gelmektedir (Yunanca rhodon: gül; dendron: ağaç). Orman güllerinin çoğunluğu daima yeşil yapraklıdır. Bu yapraklar deri gibi sert ve genellikle ovaldir. Ancak nadiren Kinabalu dağında 2000 metrenin üzerinde yayılış alanı bulan Rhododendron stenophyllum örneğinde olduğu gibi, tıpkı çamların iğne yapraklarına benzer şekilde çok dar şerit yapraklara sahip olan orman gülü türlerine de rastlanmaktadır (20)

Türkiye'nin kuzey kıyılarını bir kuşak halinde kaplayan nemli orman formasyonu içinde en dikkat çekici cinslerden birisi, kuşkusuz sarı orman gülleridir (Rhododendron Luteum), figür 1A. Orman güllerinden en yaygın olanı mor çiçekli orman gülü R. ponticumdur, figür 1B. Mor çiçekli ormangülü batıda Istranca dağlarının kuzey yamaçlarından, doğuda Hopa'ya kadar oldukça geniş bir yayılım sahasına sahiptir. Nemli orman toplulukları içinde daha çok Doğu Karadeniz Bölümünde yoğunlaşan ve birbirinden

farklı çiçekleri ile buradaki topluluklara karışan başka orman gülleri de vardır. Dünya da ise, orman güllerinin sayısı çok daha fazladır. Kuzey yarım kürede sekizyüzden fazla çeşitte orman gülü görülür (21).



(A)



(B)

**Şekil 1. A) Rhododendron Luteum (Sarı) B) Rhododendron Ponticum (Mor)  
Çiçekleri**

## İnsanlar İçin Toksik Olan Rhododendron

**Tablo 1. İnsana Toksik Grayanotoksin Kaynakları (5,6).**

Species	Family	Grayanotoxin*
<i>Agauria</i> spp. (DC.) Hooker	Ericaceae	+
<i>Andromeda</i> ( <i>Pieris</i> ) L.	Ericaceae	
<i>Pieris japonica</i> (Thunb.) D. Don	Ericaceae	+++
<i>Rhododendron</i> L.	Ericaceae	
<i>R. luteum</i> Sweet	Ericaceae	++
<i>R. ponticum</i> L.	Ericaceae	++
<i>R. occidentale</i>	Ericaceae	+
<i>R. macrophyllum</i>	Ericaceae	+
<i>R. albiflorum</i>	Ericaceae	+
<i>R. maximum</i> L.	Ericaceae	++
<i>R. japonicum</i> (Gray) Suringar	Ericaceae	+
<i>R. catawbiense</i> Michx.	Ericaceae	+++
<i>Kalmia</i> L.	Ericaceae	
<i>Kalmia latifolia</i> L.	Ericaceae	+
<i>K. angustifolia</i> L.	Ericaceae	+++
<i>Pernettya</i> Gaud.	Ericaceae	
<i>P. coriacea</i> Klotzsch	Ericaceae	++

\*bulunma oranı (spektroskopik veri); “+”, az”, “++”, orta” ve “+++”, çok”.

### Grayanotoksin

Toksik diterpenlerin bir grubunu oluşturan grayanotoksinler (GTXs), *Rhododendron* L. (Ericaceae familyası) gibi bazı bitkilerin nektar, polen ve yaprak kısımlarında görülebilirler (1). Grayanotoksinler (andromedotoksin, asetillandrometol, and rodotoksin),

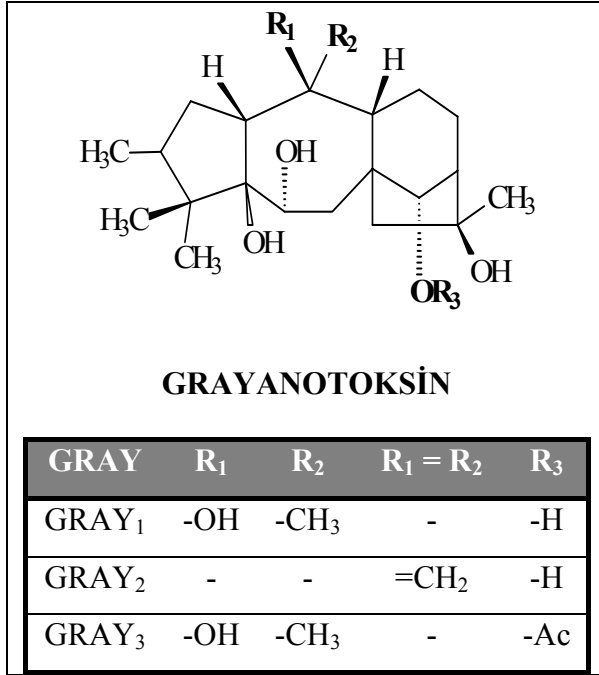
grayanotoksin-1'den türevlenirler (Şekil1). Bu molekülerin her biri dört izopren birimin ( $C_5$ )'nin bir araya gelmesiyle meydana gelen yirmi karbonlu ( $C_{20}$ ) azot içermeyen polihidroksilli siklikhidrokarbonlardır (3). Grayanotoksin zehirlenmesi daha ziyade bu toksinlerin içerildiği nektarlardan üretilen ballarla olmaktadır. Nektarın içerdiği grayanotoksinin tipi ve miktarı türden türe değişiklik gösterir. Türkiye'de sık görülen toksik rhododendronlar; *Rhododendron luteum* ve *R. ponticum*'dur (22). Amerika'nın batısındaki toksik rhododendronlar batı açelyası (*R. occidentale*), Californiya gülü (*R. macrophyllum*) ve *R. albiflorum*'dur. Kuzey Amerika'nın doğusunda yayılış gösteren dağ defnesi (*Kalmia latifolia*) ve koyun defnesi (*Kalmia angustifolia*)'de grayanotoksin içerirler. Grayanotoksinleri bitkisel yapılarında az veya çok bulunduran türler Tablo 1'de verilmiştir (4,5). En son 60 farklı grayanotoksin çeşidi tespit edilmiş olup bunlardan primer toksik içeriklere sahip olanlar grayanotoxin I, -III ve VI'tür (3,6). Primer toksisite gösteren bazı grayanotoksinlerin kimyasal yapıları Şekil 1'de gösterilmiştir,

Grayanotoxinin hücre üzerindeki toksik etkileri sodyum kanalları üzerinden meydana gelir. Bu konuda yapılmış birçok çalışma Maejima tarafından derlenmiştir. Bu derlemeye göre grayanotoksinin voltaj bağımlı Na kanalları üzerine etkisi 3 aşamalıdır. İlk olarak grayanotoksin voltaj bağımlı kanalların açılma fazında bu kanallara bağlanır. Sonra kanallar modifiye olur. En son olarak da modifiye Na kanallarının aktivasyon potansiyeli hiperpolarizasyonuna neden olur. Bu durum hücre membranında voltaj bağımlı aktivasyon veya inaktivasyona neden olur (3).

Onat ve arkadaşları, hayvan çalışmalarında grayanotoksinin respiratuar ve kardiyak etkilerini ve bunlarla beraber santral sinir sistemi ve periferik etkilerini incelemiştir. Onat, farelerde grayanotoksinin bradikardi ve respiratuar depresyona sebep olduğunu göstermiştir. Aynı çalışmada grayanotoksinin bradikardik etkisinin bileteral vagotomi ile

ortadan kalktığı gösterilmiş ve grayanotoksinin bradikardik etkilerinin, N.vagus ile periferel yoldan oluştuğunu ıspatlamıştır. Bir başka fare deneyinde Onat, non-spesifik antimuskarinik bir ajan olan atropin ile grayanotoksinin indüklediği bradikardinin ve respiratuar depresyonun düzeldiğini göstermiştir. Selektif M<sub>2</sub>-Muscorinik reseptör antagonisti olan AF-DX116 uyguladıkları farelerde ise bradikardi düzelmiş fakat repiratuar sistem üzerine bir etkisi olmamış ve solunum depresyonu düzelmemiştir. Onat, bu bulgulara dayanarak, grayanotoksinin kardiotoksik etkisinin M<sub>2</sub>-Muscorinik reseptörler üzerinden geliştiği sonucuna varmıştır (16).

Aşçıoğlu ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada ise yüksek doz grayanotoksin-1 verilen farelerde proteinüri ve hematüri gelişmiş fakat renal parankimde herhangi bir histolojik değişiklik meydana gelmemiştir. Bu çalışmada grayanotoksinin karaciğer üzerine etkileride araştırılmıştır. Sonuç olarak transaminazlarda yükseklik, hepatik santral vende, portal alanda ve parankimde konjesyon, fokal nekroz ve belirgin inflematuvar hücre infiltrasyonu tespit edilmiştir (23). Öztaşan ve arkadaşları farelere streptozosin vererek diyabetik hale getirmiş, sonra bu diyabetik farelere grayanotoksin vererek kan şeker düzeyini normal düzeye getirmiştir (11).



**Şekil 2. Grayanotoxinin Kimyasal Yapısı: Grayanotoksin I, II ve III'ün Genel Kimyasal Yapısı (24).**

### Deli Bal Zehirlenmesinde Klinik

Deli bal zehirlenmesi herkeste olmamakla beraber balı yiyen çoğu insanda toksik etkisini gösterir. Zehirlenmede en sık görülen belirtiler, belirgin hipotansiyon ve bradikardidir (25). Bu belirtiler; zehirlenmeye maruz kalanların %90'ından fazlasında oluşur. İkinci sıklıkta görülen semptomlar, terleme, sersemlik ve mental durum değişikliğidir. Senkop, diplopi, bulanık görme ve hipersalivasyon sık görülen diğer semptomlardır (26).

Oniki farklı vaka serisi incelendiğinde, vakaların % 75'inde ya non-spesifik bradiaritmi veya sinüs bradikardisi rapor edilmiştir. Aynı serilerde; hastaların %25'inde farklı derecelerde kalp bloğu; nodal ritim, AV Tam blok ve ikinci derece kalp bloğu tespit edilmiştir. Hastalardan sadece bir tanesinde asistol rapor edilmiştir Bir başka hastada

WPW sendromu rapor edilmekle beraber bu durumun deli bal zehirlenmesinde kaynaklanıp kaynaklanmadığı kesin değildir.

Hayvan çalışmalarında klinik olarak kan glukoz düzeyinde belirgin değişiklikler olmasına rağmen insan vakalarındaki çalışmalarda kan glikoz düzeyinde değişiklik bildirilmemiştir (4,17).

Yıldırım ve arkadaşlarının bildirdiği vaka sunumunda deli dal yenmesi sonucu oluşan hipotansiyon ve bradikardi; koroner akım yavaşlamasına bağlı miyokart enfarktüsü oluşturabilmektedir (27).

Zehirlenmelerde ortalama alınan bal miktarı 5–30 gr olarak rapor edilmiştir. Semptomlar alımdan sonra 1,5–3 saat içerisinde başlar (1). Zehirlenen hastalar yeterli serum fizyolojik ile destek tedavi ve 1–2 mg intravenöz atropin ile genelde düzelmeye gösterirler. Bu tedaviye cevap vermeyen hastalarda ACLS klavuzunda yer alan bradikardi algoritmasının uygulanması uygun olacaktır. Bu tedaviye rağmen düzelmeyen hastalara geçici pacemaker kullanımı gerektiren vakalar bildirilmiştir (28, 29). Hafif zehirlenmelerde 2–6 saat kardiak monitorizasyondan sonra hasta güvenli bir şekilde taburcu edilebilir. Tedavi edilmemiş ciddi zehirlenmelerde önemli semptomlar ve belirtiler en geç 24 saat içinde kaybolur. Bu sürenin sonuna kadar tüm vital bulgular normale döner (30).

## **Ağrı**

Ağrı (pain) latince “poena” (ceza, intikam, işkence) sözcüğünden gelmekte olup, tanımı oldukça güçtür. Uluslararası Ağrı Araştırmaları Derneği (IAPS) tarafından yapılan tanımlamaya göre ağrı; vücudun belirli bir bölgesinden kaynaklanan, bir doku harabiyetine bağlı olan veya olmayan, insanın geçmişteki deneyimleriyle de ilgili hoş olmayan

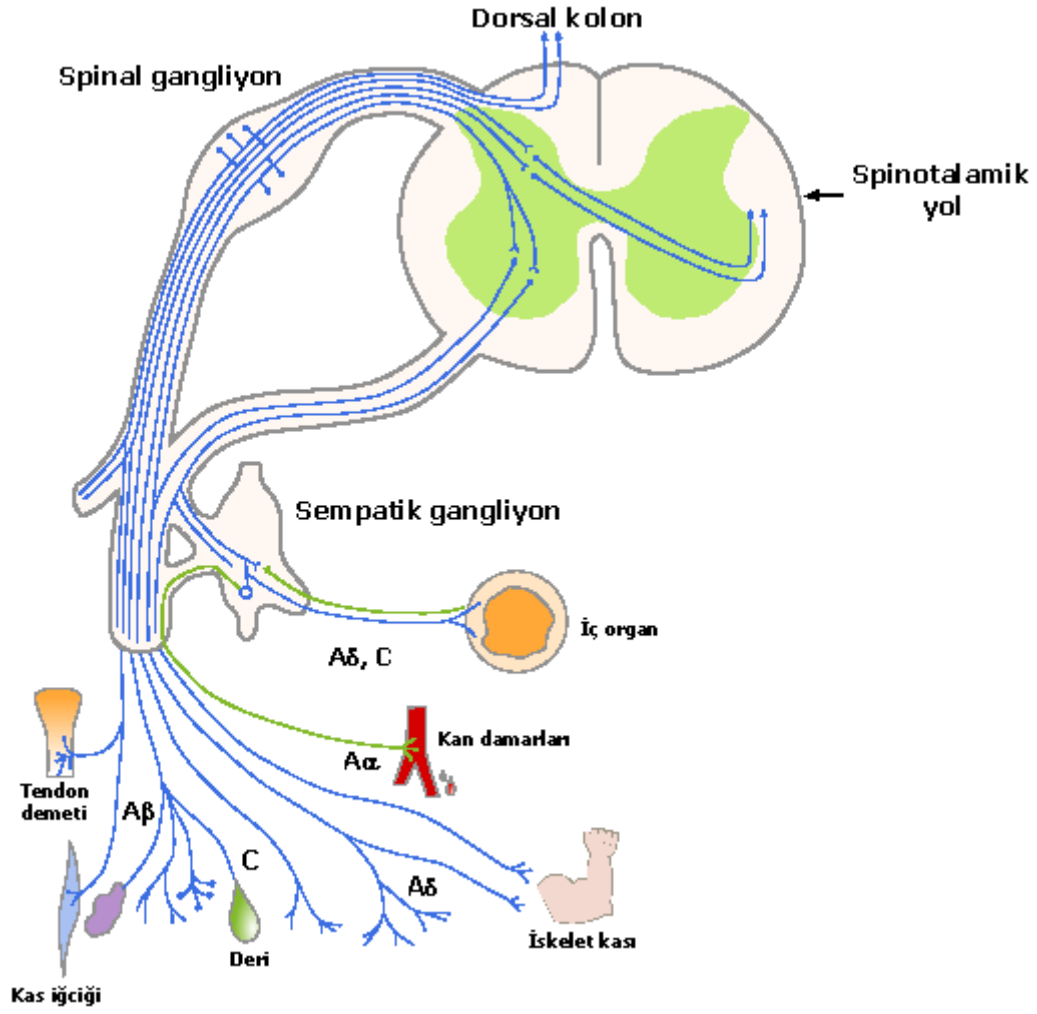


emosyonel ve sensoryal bir duydur (31). Ağrı, vücut için bir şeylerin yolunda gitmediğinin sinyallerini veren koruyucu bir mekanizma olarak da düşünölmektedir (32).

Ağrının algılanması, kişinin deneyimleri, ruhsal olarak içinde bulunduğı durum, eğitim, çevresel faktörler gibi birçok faktörden etkilenir. Bu yüzden ağrılı bir uyarana karşı yanıtta kişiden kişiye farklılıklar görülür. Hasta, doku harabiyeti ve fizyopatolojik değişiklikler olmadan da ağrı duyduğunu belirtir. Bu duyuyu doku harabiyeti ile ortaya çıkan duydudan ayırt etmek mümkün değildir. Bu tip ağrıları hemen psikojenik kökenli ağrılar olarak tanımlamak doğru değildir. Ağrının önemli bir özelliğı duyusal, yani sinir lifleri ile taşınan objektif bir olgu olması, diğere bir özelliğı ise emosyonel olmasıdır. Tüm bu özellikleri, ağrıyı diğere semptomlardan farklı olarak, kişiye özgü hale getirir (33,34).

Ağrı duyusunun duyu organları, vücudun hemen her noktasında bulunan çıplak sinir uçlarıdır. Ağrı dürtüleri, merkezi sinir sistemine (MSS) dorsal kök gangliyon (DKG) nöronları ile taşınırlar. DKG nöronları üç subsellüler bölüme ayrılır:

1. Ağrı duyusuna neden olan stimulusu algılayan nosiseptör periferel terminal.
2. Nosiseptif sinyali ileten akson.
3. Ağrı sinyalinin bir sonraki nörona ve beyine ulaşmasını sağlıyan presinaptikterminal (32).



**Şekil 3. Duyusal Nöron Tipleri (Gohar O (2005) (Contribution of ion channels in pain sensation. Modulator 19: 9-13'den değiştirilerek alınmıştır).**

Primer duyuşal nöronların morfolojik ve fonksiyonel olarak;  $A\alpha/\beta$  ,  $A\delta$  ve  $C$  tipi lifleri bulunmaktadır (Şekil 3).

Ağrı sinyalleri iletim hızlarına göre farklı tip liflerle taşınmaktadır. Hızlı ağrı sinyalleri miyelinli  $A\delta$  lifleri (1.5-6.5 m/sn) ile, kronik ağrı sinyalleri ise yavaş miyelinsiz  $C$  tipi lifler ( $\leq 0.8$  m/sn) ile medulla spinalise iletilirler (35,36).

Kronik ağrılı hastalarda C tipi liflerin iletim hızının daha da düşük olduğu gösterilmiştir. C tipi lifler, arka köklerin lateral bölümünde yer alır ve çoğunlukla arka kök C lifleri olarak adlandırılır (37).

Ağrı temel olarak iki tipte incelenmiştir. 1. Nosisseptif ağrı ve 2. Nöropatik ağrı.

**Nosisseptif Ağrı:** Somatik ve visseral ağrı olarak iki tipi vardır. Bu ikisi arasındaki temel farklılık somatik ağrının duyuşal lifler ile visseral ağrının ise sempatik lifler ile taşınmasıdır. Somatik ağrı, sızlama şeklinde, bıçak batar gibi, zonklama, basınç hissi gibi tarif edilir. İç organlardan kaynaklanan ağrı, obstrüksiyona bağılı ise kemirici ve kramp şeklinde, organ kapsülü ve mezenteri etkilemişse sızlama ve zonklama şeklindedir (31).

**Nöropatik Ağrı:** Nöropatik ağrı yaklaşık olarak populasyonun % 1'ini etkilemektedir. Nöropatik ağrı lezyon veya disfonksiyonun meydana geldiğı yere bağılı olarak periferal veya santral olmak üzere iki sınıfa ayrılır. Periferal nöropatik ağrıya; metabolik hastalıklar neden olurken, santral nöropatik ağrıya spinal kord veya beyin hasarı neden olur. Nöropatik ağrı birçok nöropati tipiyle birliktelik gösterir. En sık sebebi diyabetik nöropatidir. Fakat enfeksiyonlar (örneğin: herpetik nevralji, HIV nöropatisi) , ilaç tedavisi (sisplatin ve taksol indüklü nöropati) ve periferal sinir veya spinal kortta oluşun travmatik inşüride de nöropatik ağrı görülür (31).

### **Diabetes Mellitus**

DM, insülin sekresyonu, insülinin etkisi veya her ikisindeki bozukluklardan kaynaklanan, özellikle hiperglisemi ile karakterize karbonhidrat, lipid ve protein metabolizması bozuklukları ve hızlanmış aterosklerozla birlikte mikrovasküler ve makrovasküler komplikasyonlarla seyreden kronik, metabolik bir hastalıktır (38). Diabetes mellitus klinik olarak polidipsi, poliüri, polifaji ve kilo kaybı gibi klinik belirtiler

ile ortaya çıkar. Ağır formlarında tedavi edilmediğinde stupor, koma, hatta ölüme neden olan ketoasidosis ya da nonketotik hiperosmolar hiperglisemi gibi semptomlarla gösterir. Çoğunlukla semptomlar ağır değildir, bazen hiçbir semptom da görülmeyebilir. Patolojik fonksiyon değişikliklerine neden olan hiperglisemi, DM tanısı konulmadan uzun süre önce mevcut olabilir. Kimi zaman da retinopati, nöropati, nefropati gibi komplikasyonları ile karşımıza gelir (38,39, 40).

Günümüzde DM, hem klinik evreye hem de etyolojik tiplerine göre sınıflandırılıyor. Bu klinik evre, diyabetin doğal seyri esnasındaki farklı evrelerde oluşabilecek progresyonu yansıtmaktadır (Şekil 1).

Diabetes mellitusun tanınması, tedavi programlarının belirlenmesi, erken dönemde tanı konulabilmesi ve bu konuda toplumsal sağlık politikalarının oluşturulabilmesi için hastalığın epidemiyolojik özelliklerinin bilinmesi şarttır (38). Hastalık ilk yıllarda genellikle asemptomatik seyrettiğinden, gelişmiş ülkelerde bile diyabetiklerin bilinmeyen diyabetlilere oranı 2/1'dir. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ)'nün yaptığı çalışmalara göre 100 milyon civarındaki diyabetli sayısının önümüzdeki on yılın sonunda 200 milyona ve 21. yüzyılın başlarında da 300 milyona ulaşması beklenmektedir (41,42).

Amerika'da 20-74 yaş grubunda toplumda diyabet prevalansı %6,6 bulunmuş ve bilinmeyen diyabet olgularının oranının %50 civarında olduğu bildirilmiştir (43). Ülkemizde ise 1997-1998 yıllarında yapılan Türkiye Diyabet Epidemiyoloji Çalışması (TÜRDEP)'na göre 20-80 yaş grubunda diyabet sıklığı %7,2 olarak bulunmuştur (44).

Tip 2 Diabetes mellitus orta yaş grubunun ve yaşlıların hastalığıdır. Ancak, son yıllarda genç erişkin ve adolesan yaş gruplarında da sıklığı artmaktadır (45,46).

DSÖ, 1985 yılında diyabet hastalığını insüline bağımlı diyabet (IDDM) ve insüline bağımlı olmayan diyabet (NIDDM) olarak ayırmış ve klinik bir sınıflama yapmıştır. Ancak

bu sınıflamanın sınırlayıcı yönleri söz konusuydu. Çünkü diyabet heterojen bir hastalıktır; iki sınıf arasında ve kendi içlerinde etiyolojik ve fenotipik farklılıklar söz konusudur.

1998 yılında ADA etiyolojik bir sınıflama yaparak tip 1 ve Tip 2 diyabet sınıflamasını önermiştir (47).

### **Diyabetik Nöropati**

DN, diabetes mellitus varlığında oluşan, periferik sinir sisteminin somatik veya otonom bölümlerinin klinik veya subklinik olarak tespit edilebilir bir bozukluğudur. Nöropati gelişme riski tip 2 diyabet, yaş, diyabet süresi ve diyabete bağlı oluşan medikal komplikasyonlar ile artar. Diyabetik nöropati sinir sisteminin her bölgesini etkiler, en az tutulan bölge beyindir (48).

Uzun sürede (kan şekerinin düzenlenme düzeyine de bağlı olarak) hastaların yaklaşık yarısında nöropati gelişmektedir. Nöropati nadiren ölüme yol açar, ancak morbiditenin en önemli nedenidir. Ağrılı diyabetik nöropati gelişmiş ülkelerdeki en sık nöropati nedenidir ve nontravmatik amputasyonların %50-75'inden sorumludur. Diyabetik ayak sorunlarının etyolojisinde en önemli nedendir (49).

Periferik nöropati periferik sinirlerin bozukluklarını ifade eden genel bir addır. Periferik nöropatinin nedenleri arasında sinirlerin fakir beslenmesi, basınç veya travmaya maruz kalma ile çeşitli hastalıklar sayılabilir. Periferik nöropati motor, duyu ve otonom sinirleri etkileyebilmektedir (50, 51).

Gerçek prevalansı değişken bildirilmiştir (%10-90). Tip1 diyabette %1.4, Tip2 diyabette %14.1, 20 yıl sonra prevalans %40 dolaylarındadır. Yapılan birçok prospektif çalışma nöropati prevalansının hastalığın süresiyle arttığını göstermiştir. Her iki cinsi eşit

olarak etkiler. Tip1 ve Tip2 diyabetiklerde simetrik nöropatinin prevalansı benzer iken, fokal sendromlar daha yaşlı tip2 grupta daha sık görülür (52).

Diyabetik nöropatinin klinik olarak tanımlanması 19. yüzyılın ikinci yarısına dayanmasına rağmen, hastalığın patogenezi ile ilgili bilgilerimiz fokal diyabetik nöropatide beklenmedik bir biçimde inflamatuvar lezyonların saptanması ile ancak çok kısa süre önce birikmeye başlamıştır (53). Diyabetik nöropati patogenezinde birçok mekanizma öne sürülmüştür. Bunlar: direkt sinir hasarı yapan metabolik süreçler, endonöral mikrovasküler hasar, otoimmün inflamasyon ve azalmış nörotrofik destektir (54). Erken evrelerde küçük sinir lifleri etkilenirken ilerleyen dönemlerde büyük sinir liflerindeki tutulumu gözlenir ve histopatolojik verilere ek olarak ileti hızlarında yavaşlama ve vibrasyon eşliğinde azalma görülür. Distal lif kaybı bozulmuş glukoz toleransı olan olguların baldırlarından alınan cilt biopsilerinde de saptanmıştır. Bu evrede uyluk bölgesinin korunmuş olması da sinir uzunluğunun patogenezdaki rolünü desteklemektedir. Erken evrede belirgin lif kaybı başlamadan önce sinir vasküler yapılarında mikroanjiopatik değişiklikler ortaya çıkmaktadır (55).

Tablo 3'de diyabetik nöropati patogenezinde sorumlu mekanizmalar özetlenmiştir (50,56).

**Tablo 2. Diyabetik Nöropatide Olası Sorumlu Mekanizmalar****A. Metabolik etyolojiyi düşündüren bozukluklar**

Sorbitol birikimi

- Serbest radikallerin artışı

İntraaksonal proteinlerin sentez ve taşınma hızında düşme

- Sinir Na-K ATPaz'ında azalma

Protein kinaz C aktivasyonu

Arka kök ganglionuna azalmış aminoasit girişi

Myelin glikolipid ve aminoasit girişinin azalması

Periferik sinirde non-enzimatik protein glikozilasyonun artması

Aşırı glikojen birikimi

Sinir hipoksisi

İnozitol-lipid mekanizmasında bozukluk

**B. Vasküler etyolojiyi düşündüren bozukluklar**

Bazal membran kalınlaşması

Endotelyal hücre şişmesi ve proliferasyonu

Tıkayıcı trombüsler

Kapillerlerin kapanması

Epinöral damar ateroskleroza

Azalmış eritrosit yapısı eksikliği

**C. Diğerleri**

Artmış sinir ödemi

Artmış kan sinir permeabilitesi

Azalmış endojen sinir büyüme faktörü

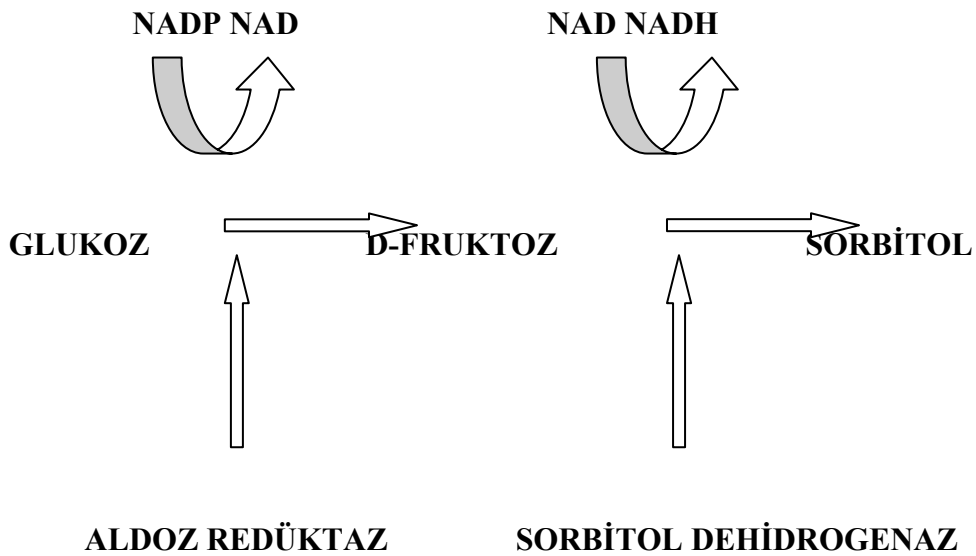
İnsülin yetmezliği

Diyabetes Control and Complications Trial (DCCT) isimli klinik çalışma kan şekerinin sıkı kontrol altına alan yoğun insülin tedavisinin diyabetik nöropati gelişme riskini 5 yılda % 64 oranında azalttığını göstermiştir (82). Bu bulgu kontrolsüz hipergliseminin nöropatiye yol açtığının kuvvetli kanıtıdır. Progresif sinir harabiyeti

hiperglisemi süresi ve şiddeti ile ilişkilidir. Streptozosin (STZ) ile diyabet oluşturulan farelerde kötü metabolik kontrol ile 2-3 haftada diffüz distal sinir kaybı ve multipl proksimal sinir infarktları geliştiği gösterilmiştir(57). Hiperglisemi sonucu sinir hücresi içine giren glikozun artışı ve sinir içinde sodyuma bağlı myoinozitol tutulmasının azalması, sinir içinde myoinozitol miktarını düşürür. Bunun sonucu diaçil gliserol düzeyi, protein kinaz C (PKC) aktivasyonu ve sodyum-potasyum ATPaz aktivitesi azalır. Bu şekilde hücre içinde sodyum birikmeye başlar, sinir hücresinde ödem, myelinde şişme gelişir, aksogial aralık açılır, sinirde dejenerasyon meydana gelir. Nöronal kan akımının azalmış, vasküler rezistansın artmış,  $pO_2$  düzeyinin azalmış ve vasküler permeabilitenin artmış olması, hipoksinin nöropatinin gelişiminde etkili olduğunu destekleyen göstergelerdir (58).

#### **Diyabetik Polinöropati Patogenezinde Polyol Yolu Aktivasyonu**

Şekil 4'te polyol yolu şematik olarak gösterilmiştir.



**Şekil 4. Polyol Yolunun Şeması (57).**



Hiperglisemi nedeniyle bu yolun aşırı aktivasyonu sonucu glukoz aldoz redüktaz enzimi tarafından sorbitol ve fruktoza dönüşür. Hücre içinde sorbitol birikimi myoinozitol ve taurinin azalmasına, bu da Na-K ATP'az aktivitesi azalmasına ve sinir ileti hızının düşmesine neden olur (59).

Aldoz redüktaz enzim aktivitesindeki artışı ile nikotinamid difosfataz (NADPH) deposu azalır. NADPH bağımlı diğer enzim aktiviteleri, özellikle glutatyon azalması sonucu endotelial hücrelerin oksidatif hasara özellikle hidrojen peroksit duyarlılığı artar. Glukoz transportu için insülin gerektirmeyen bazı dokularda (sinirler, lensler, böbrekler ve kan damarları) hiperglisemi intrasellüler dokuda glukoz artışına neden olabilir. Bu fazla glukoz aldoz redüktaz enzimi ile bir poliol olan sorbitole ve daha sonra fruktoza metabolize olur. Bu değişiklik iki istenmeyen etkiye sebep olur. Birincisi biriken sorbitol ve fruktoz intrasellüler osmolariteyi artırarak su akımına ve sonunda osmotik hücre hasarına neden olur. Lensten osmotik olarak çekilen su şişme ve opaziteye neden olur. İkinci olarak sorbitol birikimi myoinozitol içeriğinde azalma ve Na/K adenosin trifosfataz (ATPaz) da bozulmaya neden olur. Bu mekanizma Schwann hücrelerindeki ve retinal kapillerlerin perisitlerindeki hasardan sorumlu olabilir; periferik nöropati ve mikroanevrizmalara neden olur. Aldoz redüktaz inhibitörleri uygulayarak diyabetik nöropatiyi tedavi etmeyi amaçlayan çalışmalar yüz güldürücü olmamıştır (60).

Hiperglisemi; kovalent, nonenzimatik glikozilasyon sonucunda proteinlerden ilerlemiş glikasyon son ürünleri (Advanced Glikosylation and Product, AGE) oluşmasına neden olur. AGE birikimi ile nitrik oksit aktivitesinde azalma, sitokin ve büyüme faktöründe artış, endotelial disfonksiyon, azalmış sinir kan akımı ve iskemiyle ilişkilidir (61,62).

Glukoz otooksidasyonu oksidatif stresi artırır. Eser miktardaki serbest demir ve bakır gibi metallere katalize edilerek reaktif oksijen radikal oluşumuna yol açar (22). Serbest radikaller mikrovasküler hasarla sinir iletiminde yavaşlama yapar (51).

Diyabetik nöropatinin sınıflandırılması 1988 yılında San Antonio’da düzenlenen diyabet konferansında gerçekleştirilmiş ve Tablo 4’de görüldüğü gibi sınıflandırılmıştır.

**Tablo 3. Diyabetik Nöropatinin Sınıflandırılması**

A. Subklinik nöropati	B. Klinik nöropati
1. Anormal diagnostik testler <ul style="list-style-type: none"> <li>a. Sinir ileti hızında azalma</li> <li>b. Uyarılmış kas veya sinir aksiyon potansiyelinin azalması</li> </ul>	1. Yaygın nöropati <ul style="list-style-type: none"> <li>a) Distal simetrik sensorimotor polinöropati (İnce lif nöropatisi, Kalın lif nöropatisi, Karışık tip)</li> <li>b) Otonom nöropati (Anormal pupil fonksiyonu [myozis ve dilatasyon bozuklukları], Lakrimal gland disfonksiyonlar, Kardiyovasküler bozukluklar [Ortostatik hipotansiyon, istirahat taşikardisi, ağrısız miyokard infarktüsü, uzamış QT düzeyine bağlı ani ölüm] Sudomotor fonksiyon bozukluğu, Genitoüriner otonomik nöropati [Mesane fonksiyon bozukluğu, Seksüel fonksiyon bozukluğu], termoregülatör bozukluklar [Azalmış, artmış veya gustator terleme, nöropotik ödem], solunum kontrol bozuklukları)</li> <li>c)Gastrointestinal otonomik nöropati (Mide atonisi, Safra kesesi atonisi, Diyabetik ishal, Hipogliseminin varlığından habersizlik, Hipoglisemiye duyarsızlık)</li> </ul>
2. Anormal kantitatif duyu testi <ul style="list-style-type: none"> <li>a) Vibrasyon-dokunma</li> <li>b) Sıcak-soğuk testi</li> </ul>	2. Fokal nöropati <ul style="list-style-type: none"> <li>a) Mononöropati</li> <li>b) Mononöropati multipleks</li> <li>c) Radikülopati (L2, L3, L4 kökleri; diyabetik amyotrofi, T4-T12 kökleri; diyabetik torasik radikülopati, S1 (S2) kökleri, C5-C6 (C7,T1) kökleri)</li> <li>d) Kranial nöropati</li> <li>e) Pleksopati</li> </ul>
3. Anormal otonomik fonksiyon testleri: <ul style="list-style-type: none"> <li>a) Sinüs aritmisi</li> <li>b) Sudomotor fonksiyonunda azalma</li> <li>c) Pupiller latans artması</li> </ul>	

### **Diyabetik Nöropati Kliniği**

Tutulan doku veya organda gelişen disfonksiyon kliniğe yansıyacaktır. En sık görülen yakınma el ve ayaklarda çorap-eldiven tarzında yanma- uyuşma ile kendini gösteren kronik sinsi seyirli nöropatidir.

Nöropatik ağrıya eşlik eden başlıca semptomlar şunlardır:

**Hiperalezi:** Normalde ağrılı olan uyarana karşı verilen yanıtın artmasıdır.

**Allodini:** Normalde ağrılı olmayan bir uyarının ağrıya neden olmasıdır.

**Hiperestezi:** Özel duyarlar haricinde herhangi bir uyarana karşı duyarlılığın artmasıdır.

**Hipoestezi:** Özel duyarlar haricinde herhangi bir uyarana karşı duyarlılığın azalmasıdır.

**Dizestezi:** Kendiliğinden veya uyarı ile ortaya çıkan anormal bir duyudur.

**Parestezi:** Kendiliğinden veya uyarı ile ortaya çıkan hoş olmayan bir duyudur.

**Hiperpati:** Tekrarlanan uyarılara karşı eşik düşerek cevabın artması (67).

**Distal simetrik polinöropatiler:** Diyabetik nöropatinin en sık raslanan klinik tipidir. Genellikle sinsi başlar ama ani ortaya çıkabilir. Sensoryal veya motor, her iki lif tipini de tutan özellikte olmakla birlikte ağırlıklı tutulum sensoryaldır. Sıklıkla alt ekstremitelerde simetrik duyu kaybı ile karakterizedir. Üst ekstremitte tutulumu ve motor defisit genelde pek görülmez, çünkü uzun sinirler daha erken etkilenir (51).

**Küçük Lif Nöropatisi (C-Fiber):** Küçük lif tutulumunda daha ziyade alt ekstremitelerde ağrı ve pareteziler vardır. Semptomlar geceleri artar ve daha ziyade ayaklarda olur. Ağrı şiddeti ve karakteri farklıdır. Ağrı yanıcı ve kesici olarak tanımlanır. Ağrılar o kadar dayanılmaz olabilir ki hastalarda intihar girişimi yaratabilir. Zedelenen bu sinirlerin tahribatı tam olduğunda bu parasteziler kaybolur. DTR ve motor muayeneler

normaldir. Etiyolojide nörovasküler dolaşımın bozulmasının yanı sıra belli nöral antijene sahip cilt sinir liflerinde azalma sözkonusudur. Hastalarda termal eşikte ve otonom testlerde gerileme, ayak ülseri riskinde artış, normal EMG, giderek hissizlik, otonom etkilenmeye bağlı terlemede azalma, kuru cilt ve vozomotor bozukluklar nedeniyle soğuk ayak vardır. Ayak ülseri ve gangren en önemli risktir (63,64).

**Büyük Lif Nöropatisi (A Delta Fiber):** Hem duyu hem de motor sinirleri tutar. Küçük liflerin aksine bunlar miyelinli olup baş parmaktan başlar ve ilk sinapsisleri medulla oblongatadadır. En önce atake olan liflerdir. Çünkü en uzun olanlardır. Myelinli lifler oldukları için elektromiyogramda subklinik anormallikler saptanır. Kan akımında bozukluk yoktur ve ayaklar sıcaktır. Ayak kemiklerinde osteopeni vardır. Ataksi; düşme eğilimini ve fraktür riskini artırır. Mikst ve otonom tutulumda ağrı-ısı duyusu kaybı, Charcot eklemi, ağrısız mesane retansiyonu ve Argyll-Robertson pupili oluşur (diyabetik psödotabes). DTR azalır. Myelinlidirler ve EMG ile değişiklik fark edilebilir. Diyabetik periferik otonomik nöropati ile birlikte periferik vasküler hastalık, travmatik ayak ülserine yol açar (61).

Çoğu hastada ince ve kalın lif nöropatileri karışık vardır. Kalın lif tutuluşunda daha yüksek, ince lif tutuluşunda daha alçak düzeyde çorap tarzı bir nöropati sözkonusudur. Elve ayak küçük kaslarında atrofi tipiktir (65).

### **Proksimal Diyabetik Nöropati (Diyabetik Amyotrofi, Femoral Nöropati)**

Akut veya subakut, gürültülü, sıklıkla asimetric başlangıçla dikkati çeker. Genellikle bir alt ekstremitede, örneğin kalça ya da uylukta şiddetli ağrı ile başlar ve günler içerisinde kuvvetsizlik ve atrofi görülür. İliopsoas, obturator ve adduktor kaslar tutulurken gluteus maximus ve minimus korunur. Nadiren beraberinde üst ekstremitede de tutulum olur. Akut

ağrıyı izleyen proksimal ve distal zaaf ile giden klinik tablo birçok kere kompresif santral radikülopati ile karışır (51).

**Trunkal monöropati (radikülopati):** Tek taraflı, asimetrik olarak sinir kökünün etkilendiği bir sensoriyel nöropatidir. Daha ziyade yaşlı ve uzun süreli diyabetiklerde görülür. Her iki cinste eşit görülür. Genellikle periferik nöropatiyle ilişkilidir ve diyabetik kaşeksiye benzeyebilir. Tutulan kök bölgesindeki hiperestezi nedeniyle akut abdominal veya torasik ağrı ile karışabilir. Zonadaki erken ağrı veya neoplazi ağrılarına benzer. İç organ kökenli ağrılar ve herpes zoster enfeksiyonu ayırıcı tanısı yapılmalıdır. Gece ağrı artabilir. Ortalama üç ayda düzelir (66).

**Kraniyal nöropatiler:** Akut başlangıçlı 3 ve 6.sinir felçleri genellikle ileri yaşlarda glisemi kontrolü kötü olan hastalarda ortaya çıkar. Genellikle hastaların yarısında ağrı yoktur. En sık 3. Kafa çifti tutulur. Göz çevresinde şiddetli ağrı ile başlar. Ptoz vardır. Diyabetik 3. sinir felcine genellikle pupilla katılmaz ve böylece kranial anevrizmadan ayrılır. 6. sinir daha az, 4. Kafa çifti nadir etkilenir. 7. Kafa çifti tutuluşuna bağlı izole yüz felci olabilir. Nadiren diğer kraniyal sinirlerde tutulabilir. Aylar içerisinde spontan ve tam düzelme gösterirler (63).

**Tuzak nöropatileri:** Yavaş seyirli, ilerleyicidirler ve cerrahi müdahale gerektirebilirler. En çok rastlanan tuzak nöropatileri median, radial, ulnar, lateral kütanöz ve ana peroneal sinirlerde tutulumdur. Median etkilenmede ilk 3 parmakta, unlar tutuluştaki küçük ve yüzük parmaklarda his kaybı olur. Karpal tünel sendromuna diyabetiklerde 2 misli sık rastlanır. Hastalarda yakınmalar giderek kola yayılabilir (64).

## **Diyabetik Nöropatide Tanı ve Ayırıcı Tanı**

Diyabetik nöropati tanısı nonspesifik, başka durumlarda da rastlanan özellikleri nedeniyle zordur. Genellikle önce sensoriyal, daha sonra motor tutulumu görülür. Nöropati tanısında dikkatli nörolojik muayene ve tam bir medikal anamnez oldukça önemlidir. Diyabetik nöropatide standardize kriterler geliştirmek için Konsensus Oluşturma Konferansı diyabetik nöropatinin teşhisinde kullanılmak amacıyla aşağıdaki beş ölçümü önermiştir:

- . Klinik ölçümler

- . Elektrodiagnostik değerlendirme

- . Morfolojik ve biyokimyasal analizler

- . Kantitatif duysal testler

- . Otonom sinir sistemi testleri (67). Klinik Ölçümler: Diyabette nörolojik bozukluğun varlığı ya da yokluğunu saptarlar. Nörolojik bozukluğun nöropatik olmayan nedenlerini ekarte ederler. Diyabetik nöropatinin farklı tiplerini ayırt ederler ve sınıflarlar. Progresyonu izler ve araştırma sonuçlarıyla klinik arasında ilişki kurarlar (68).

Klinik kriterler aşağıdakileri içermektedir:

- Genel tıbbi özgeçmiş ve nörolojik özgeçmiş

- Nörolojik muayene: Duysal (ağrı, ince duyu, vibrasyon, pozisyon), motor (normal=0, zayıf=1-4 ), refleks (var ya da yok)

- Otonom fonksiyonların muayenesi (derin nefeste kalp hızı değişiklikleri, postürel kan basıncı yanıtı)

- Semptomların varlığı ya da yokluğunda orta dereceli bulgular

- Orta derecede semptomların varlığında hafif bulgular

Hem semptomların şiddeti hem de nöropatik kayıplar Nöropati Semptom Skoru (NSS) ve Nöropati Sekel ve Bozukluk Skoru (NDS, NIS) gibi geçerli olan puanlarla değerlendirilmelidir (69, 70).

### **Morfolojik ve Biyokimyasal Ölçümler**

Deri ve Sinir Biyopsisi: Rutin olarak kullanılmayan ancak yapılan tüm konvansiyonel yöntemlere rağmen tanı konamayan hastalarda sural sinir biyopsisi yapılabilir. Sural sinir biyopsisi tecrübeli patologlar tarafından değerlendirildiğinde, başka tip bir nöropatiyi ayırmada da yardımcı olabilir.

Klinik çalışmalarda deri biyopsisi küçük lif patolojilerini ayırtetmede yararlı olur. PGP 9.5 boyama ile cilt liflerindeki kayıp gösterilebilir. Deri biyopsisi 3 mm punch-biopsilerin alt ekstremitede çeşitli yerlerden (bacak, baldır) ve ön koldan minimal invaziv olarak alınması şeklindedir. Böylece proksimal/distal epidermal sinir lifleri değerlendirilir (71).

Kantitatif Duysal Test: Kantitatif duysal test (QST-quantitative sensory testing) belirli bir modalite için güvenilir olarak saptanan minimal enerji olarak tanımlanan tam duysal eşik saptanmasıdır. Periferik Sinir Derneği, dokunma basıncı, vibrasyon, soğuk-sıcak duyusu, ısı ağrısı, soğuk ağrısı ve mekanik ağrıyı saptama eşiklerinin deri duyarlılığını nitelendirmek için kullanılmasını önermektedir (71).

### **Diyabetik Ratlarda Ağrılı Nöropati**

Ağrılı nöropati modeli olarak kemirgenlerin kullanımı hem sinir sisteminin elektriksel ve nörokimyasal aktivitelerinin hem de duysal uyarana davranış cevaplarının değerlendirilebilmelerine olanak tanır. Diyabetik rat ve farelerde erken dönemde sinir

iletim yavaşlamaları olur. Kemirgenlerin ağrılı nöropatisinde, fizyolojik, nörokimyasal ve davranışsal değişikliklerin ana nedeni hiperglisemidir. Diyabetik ratlarda davranış çalışmaları hiperaljezi ve allodini testleri ile yapılır. Kuyruk veya pençenin sığağa maruz bırakılmasıyla hayvanın ekstremitelelerini çekme süresi, hiperaljezi ve hipoaljeziyi belirleme yöntemi olarak değerlendirilir (73-74).

### **Deneysel Ağrı Modelleri**

Elektriksel stimulusla oluşturulan ağrı (75) ısıyla oluşturulan ağrı (76), kimyasal ajan uygulayarak oluşturulan ağrı (77), bu metodların bazılarıdır. Bunların büyük bir kısmı, klinik ağrı sendromların deneysel modelleri olarak kabul edilmekte ve bu özel alt tiplerin patofizyolojisini gün ışığına çıkarmak amacıyla kullanılmaktadırlar. Farklı veya benzer metodlarla oluşturulan deneysel ağrı modelleri şunlardır (78).

1. Hot plate testi (Sıcak plaka modeli)
2. Termal uyarana karşı kuyruk veya ayak çekme modeli
3. Mekaniksel duyarlılığı belirleme modeli (Von-Frey filament stimulasyonu)
4. Diş eti stimulasyonu modeli
5. Formalin, antijen, maya vb. ile ayak veya intra artikular enjeksiyon modeli
6. Tahriş edici bir maddenin intramusküler enjeksiyonu
7. Tahriş edici solusyonun intraperitoneal enjeksiyonu
8. Kemik içine osteolitik sarkoma hücrelerinin intramedullar enjeksiyonu
9. İçi oyuk organ distansiyonu
10. Deri kesilmesi
11. Periferal veya spinal sinir veya köklerinin ezilmesi veya sıkıştırılması
12. Periferal veya spinal sinir veya köklerinin kısmen veya tamamen transeksiyonu



### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma Karadeniz Teknik Üniversitesi Acil A.B.D ve Fizyoloji Anabilim Dalı ile birlikte yapıldı ve çalışmanın etik onayı, Karadeniz Teknik Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu'ndan alındı.

#### **In Vivo Plantar Analjezimetre Testinde Ağrı Eşiğinin Belirlenmesi (Davranışsal Ağrı Testi)**

Bu deneysel çalışmalarda ortalama ağırlıkları 30 gram ( $30 \pm 5$  g) olan erişkin (en az 8 haftalık) BALB-C cinsi erkek fareler kullanıldı. Hayvanlar KTÜ Tıp Fakültesi Cerrahi Araştırmalar merkezinden temin edildi ve buldukları ortamın sıcaklığı 22-25 °C arasında sabit tutuldu. Hayvanlar 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık ortamda tutuldu. Beslenmeleri standart pelet halindeki fare yemleri ve musluk suyuyla sağlandı. Her gün canlı ağırlık ve kan glikoz düzeyi ölçümleri de gerçekleştirildi. antinosiseptif davranışsal deneyleri gerçekleştiren kişi farelerin kan glikoz düzeyi ile grayanotoksin uygulaması hakkında bilgi sahibi olmadı. Her bir gruptaki farelere işaretleme ile numara verildi. Çalışmada toplam 85 adet fare kullanıldı.30 adet fare; 0.05mg/kg,0.1 mg/kg ve 0.2 mg/kg fare canlı ağırlığı tek uygulama grayanotoksin etkisi (n=10 her bir doz için)akut ağrı deneyinde, normoglisemik grupta termal nosiseptif ağrı eşiği test edildi. Kronik ağrı için diabetik nöropati oluşturulacak grupların (n=15) 15 fareden oluşacak şekilde 3 grup olarak toplam 45 fareden oluşturuldu.10 farelik 1 kontrol grubu oluşturuldu.

Farelerin ağırlıkları alındı. Farelerin kuyruktan glikometri ile kan şekerlerine bakılıp kayıt edildi. Farelerin cihaza adaptasyonu için sabah 9-12 saatleri arasında aklimatizasyon işlemi yapıldı. Aklimetizasyon işleminden sonra farelerin sağ arka ayak pençelerinden ağrı eşikleri (latansları) ölçüldü. Diabetik nöropati yapılacak farelere i.p streptozosin 180mg/kg uygulandı.(79).Yaklaşık 4. hafta STZ ile diyabet indüklenmiş farelere; 0.05mg/kg,0.1 mg/kg ve 0.2 mg/kg fare canlı ağırlığı, tek uygulama(n=15 her bir doz grubu için, toplam=45) grayanotoksin uygulandı.(80).

### **Plantar Analjezimetre Testi**

Bu protokol yanları plastik saydam bir bariyerle hayvanların dışarı çıkmaları engellenecek şekilde kapatılmış fakat hayvanların etrafta rahatça hareket edebileceği tabla bölümüne bırakılarak radyan ısının alttan uygulandığı ve hayvanın ısı uyarısına vermiş olduğu cevap süresi ölçülerek ağrı eşiğinin tespitine yönelik bir termal akut ağrı modelidir. (81).

Çalışmada fareler için uygun büyüklükteki Plantar Analjezimetre (MAY PWAM 0903 Plantar Test, Ankara, Türkiye) kullanılarak termal uyarıya bağlı pençe çekme süreleri (termal nosiseptif eşik) belirlendi. Bu amaçla, farelerin sağ arka ayak pençelerinin plantar yüzeylerinin ortasına odaklanan infrared ışık demeti şeklinde aşağıdan radyan ısı uygulandı. Isı yaklaşık 53 derece civarındaydı (81). Bu düzenekte ön denemeler gerçekleştirilerek normal (normoglisemik kontrol) farelerin radyan ısı uygulamasından pençelerini yaklaşık 5-6 sn sonra çekecekleri şiddete ayarlandı ve doku zedelenmesini önlemek için “cut-off” süresi 6 saniye olarak belirlendi. Fareler pençelerini çektikleri anda ısı uygulaması otomatik olarak sonlanan sistemde “termal nosiseptif eşik” latansı saniye

cinsinden otomatik olarak (dijital göstergeyle) belirlenmekte ve 256 ölçüme ait veri bilgisayara aktarılabilmektedir.

Testler sabah 09-12 saatleri arasında gerçekleştirildi ve test uygulanması esnasında ortamın sessizliğine özen gösterildi. Hayvan 6 sn içerisinde cevap vermediği takdirde doku hasarını önlemek amacıyla deney sonlandırıldı ve çalışmaya dahil edilmedi. Deneylerden önce hem normal hem de diyabetik farelere 1 hafta süreyle Plantar Analjezimetre testi uygulanarak, bütün hayvanların deney şartlarına alışmaları sağlandı. Deney hayvanları deney odasına ölçümlerden en az 15 dakika önce alındı ve deneyler kolonilerin tutulduğu odadan farklı bir ortamda gerçekleştirildi. Ölçümler deney protokollerine kör ve bütün ölçümler için aynı değerlendirici tarafından gerçekleştirildi. “Termal nosiseptif eşik” değerleri her bir fare için en az bir dakika arayla 3 defa ölçülerek ortalama değerler alındı. Her bir fare için diyabet indüklenmeden ve grayanotoksin uygulamadan önce kontrol eşik değerleri belirlenerek gruplar için ortalama değerler hesaplandı.

### **Diyabetik Farelerde Plantar Analjezimetre Testi**

Çalışmanın bu kısmında kullanılacak 45 adet fareye streptozotosin (STZ), 180 mg/kg olacak şekilde 0.4 ml (0.1 M) sodyum-sitrat tamponunda (pH:4.5) çözdürülerek ip enjeksiyonla tek doz olarak uygulandı (79). Bir hafta sonra kuyruk veninden kan alınarak, glikometre cihazındaki ölçümü sonucu tokluk kan glikozu > 300 mg/dl’yi geçen fareler, diyabetik olarak kabul edildi. Diyabet oluşumundan iki hafta sonra “Plantar Analjezimetre” testiyle bu hayvanların ağrı eşiği değerleri incelendi. Kontrol ve diyabet indüklenmiş farelerin vücut ağırlığı ölçümleri de yapıldı. STZ uygulandıktan 4 hafta sonra GTX uygulanımı için fareler labaratuara alındı.

Grayanotoksin (GTX) Etanolle çözülerek i.p enjeksiyonla her gruba farklı üç doz uygulanarak latanslarına bakıldı.

Akut Ağrıda enjeksiyon uygulanılmadan latansları 0.dakika olarak kabul edildi. Gruplar halinde farelere GTX yapıldıktan sonra ikili gruplar halinde plastik bariyerli kaba koyuldu. Tek tek farelerin latanslarına bakıldı.

Grup 1(10):0.05mg/kg GTX uygulandı.10-20-30-60-100 dk larda latanslarına bakıldı.

Grup 2(10):0.1 mg/kg GTX uygulandı.10-20-30-60-100 dk. Latanslarına bakıldı.

Grup 3(10):0.2 mg/kg GTX uygulandı.10-20-30-60-100 dk. Latanslarına bakıldı.

Kronik Ağrı için diyabetik nöropati yapılan fareler kullanıldı. Bunlarda 15 li üç grup halindeydi. STZ uygulandıktan sonra, kuyruk veninden kan alınarak kan glulozuna bakıldı. Kan glukozu>300 olanlar diabet kabul edildi. Yaklaşık 4 hafta sonra nöropatik kabul edilip latanslarına bakıldı. Nöropati sonraki latanslar 0. Dakika olarak kaydedildi. GTX (GRAYANATOKSİN) enjeksiyonundan sonra 10.20.30.60.100.dakikalarda latanslar ölçülüp kaydedildi.

Grup 1 DM (15): 0.05mg/kg GTX uygulandı.10-20-30-60-100 dk. Latanslarına bakıldı.

Grup 2 DM (15): 0.1 mg/kg GTX uygulandı.10-20-30-60-100 dk. Latanslarına bakıldı.

Grup 3 DM (15): 0.2 mg/kg GTX uygulandı.10-20-30-60-100 dk latanslarına bakıldı.

Kontrol grup (10): Etanol uygulandı.10-20-30-60-100.dk latanslarına bakıldı.

## 4. BULGULAR

Çalışma ve kontrol gruplarını oluşturan farelerin % 90'ı çalışmayı tamamladı.

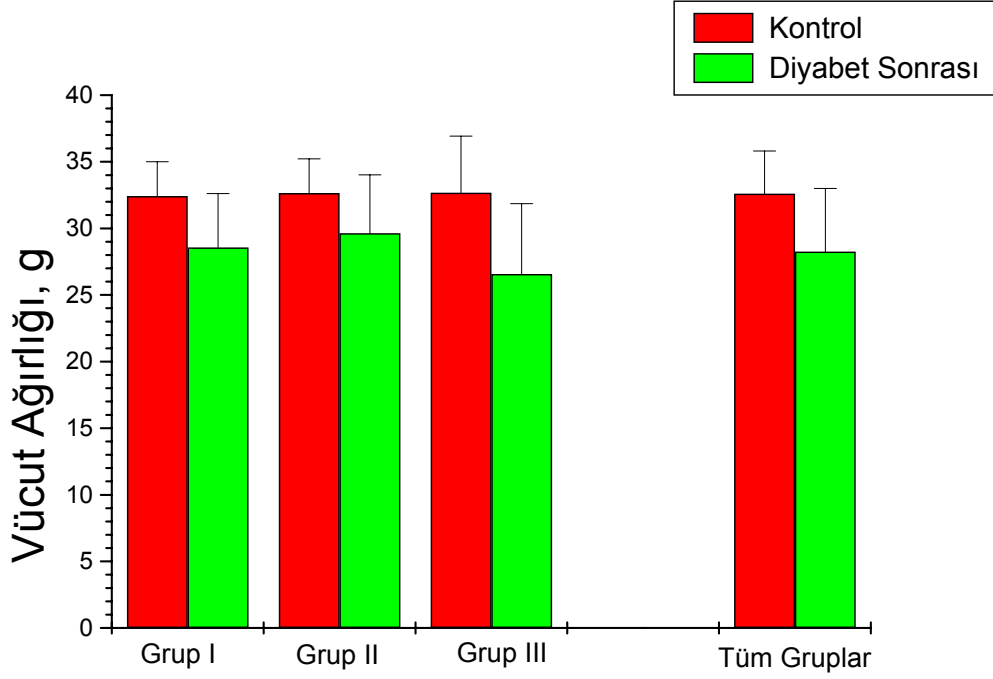
Çalışmanın başında 1 kontrol grubu(n=10), 3 normoglisemik grup; grup 1 (n=10),grup 2(n=10),grup3 (n=10), 3 diyabetik nöropatik grup; grup 1 (n= 15),grup 2(n=15),grup 3 (n=15), oluşturulacak şekilde 7 grup BALB-C cinsi erkek fareler seçildi.

### 4.1. Farelerin Ağırlık Ölçümü

Çalışmaya alınan farelerin ilkin ağırlık ölçümleri yapıldı. Diyabetik yapılan farelerin grayanatoksin uygulamadan önce tekrar ağırlıklarına bakıldı.

**Tablo 4. Farelerin Ağırlık Ölçümü**

	Ağırlık Ortalaması (gr)	n (sayı)	SD	p değeri
<b>Grup 1</b>				
Ölçüm (Diabet Öncesi)	32,4	8	2,57	
Ölçüm (Diabet Sonrası)	28,6	8	4,05	0,02
<b>Grup 2</b>				
Ölçüm (Diabet Öncesi)	32,7	14	2,56	
Ölçüm (Diabet Sonrası)	29,6	14	4,38	0,015
<b>Grup 3</b>				
Ölçüm (Diabet Öncesi)	32,7	13	4,24	
Ölçüm (Diabet Sonrası)	26,6	13	5,3	0,001
<b>TOPLAM</b>				
Ölçüm (Diabet Öncesi)	32,6	35	3,2	0,001
Ölçüm (Diabet Sonrası)	28,2	35	4,7	



**Grafik 1. Fare Vücut Ağırlığı Grafiği**

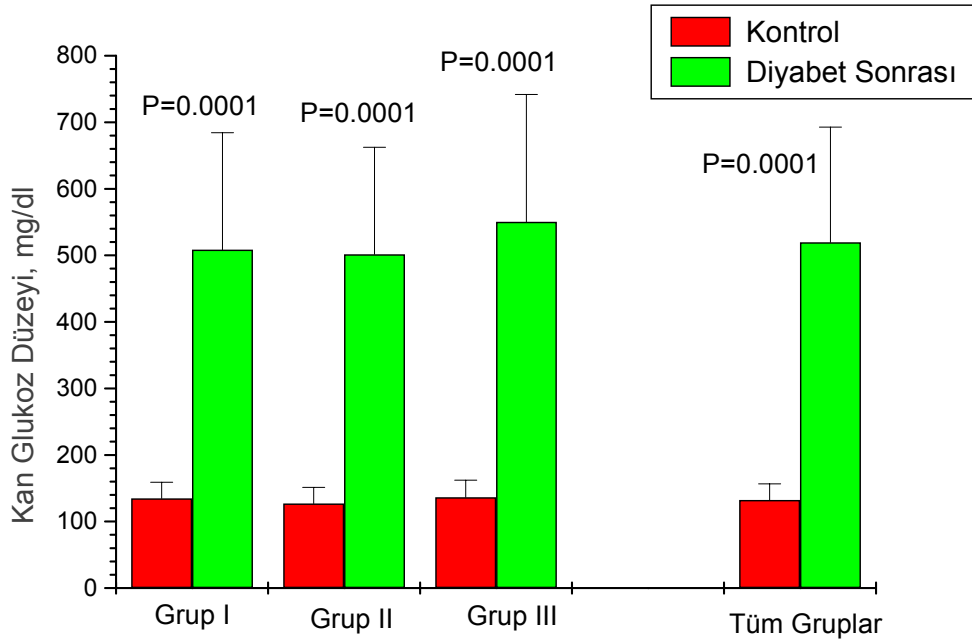
STZ sonrası diabet yapılan farelerin kilolarında anlamlı derce de bir düşüş oldu. Hiperglisemik semptomlar gösteren farelerin çok su içme çok idrara çıkma gibi bulguları tespit edildi. Grup 1 farelerinden 7 tane, grup 2 den 1 tane ve grup 3 ten 2 tane fare ex oldu.

### **Kan Glukoz Ölçümleri**

Çalışma ve kontrol gruplarının STZ uygulamadan önce ve sonraki kuyruk venlerinden bakılan kan glukoz oranlarına bakıldı.

Tablo 5. Kan Glukoz Ölçümleri

	Kan Glukoz Ortalaması (gr)	n (sayı)	SD	p değeri
<b>Grup 1</b>				
1.Ölçüm (STZ Öncesi)	134,8	15	24,2	
2.Ölçüm (STZ Sonrası)	508,5	15	175,7	<b>0,0001</b>
<b>Grup 2</b>				
1.Ölçüm (STZ Öncesi)	127	15	24,2	
2.Ölçüm (STZ Sonrası)	501,4	15	160,9	<b>0,0001</b>
<b>Grup 3</b>				
1.Ölçüm (STZ Öncesi)	136,4	14	25,6	
2.Ölçüm (STZ Sonrası)	550,4	14	191,4	<b>0,0001</b>
<b>TOPLAM</b>				
1.Ölçüm (STZ Öncesi)	132,3	44	24,2	<b>0,0001</b>
2.Ölçüm (STZ Sonrası)	519,4	44	173,2	



Grafik 2. Kan Glukoz Ölçümleri

STZ uygulanan tüm hayvanlarda çok su içme, çok idrara çıkma ve yem tüketiminde artış gibi hiperglisemi belirtileri gözlemlendi. Diyabet yapılan üç gruptan toplamda 10 fare takipler sırasında ex oldu.

### Ağrı Eşiği Değerleri (Latans)

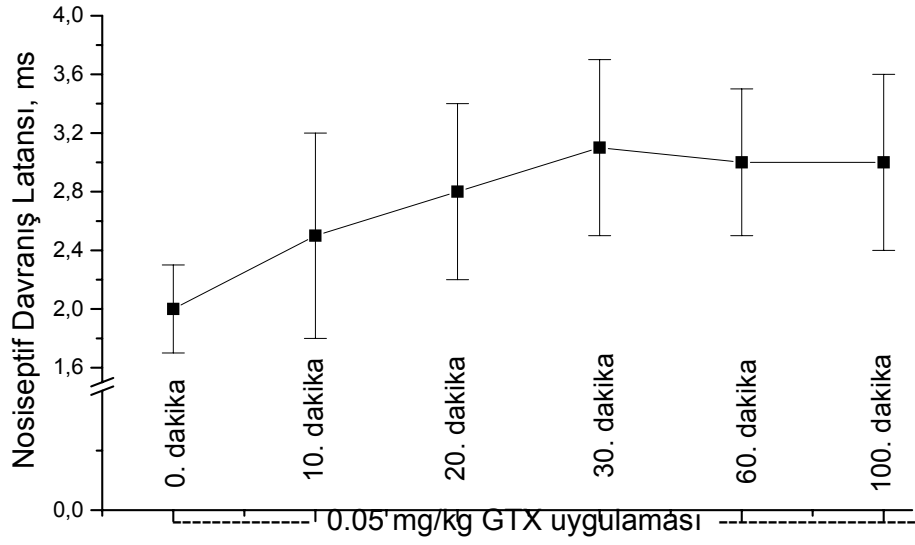
Fareler diyabet yapılmadan önce gruplar halinde adaptasyon işlemine tabi tutuldu. Aklimetizasyon için her bölmeye 3 fare alındı. Adaptasyon işlemi ortalama 5 dakika sürdü. Adaptasyondan sonra farelerin latansına bakıldı.

**Tablo 6. Normoglisemik Grup (Akut Ağrı)**

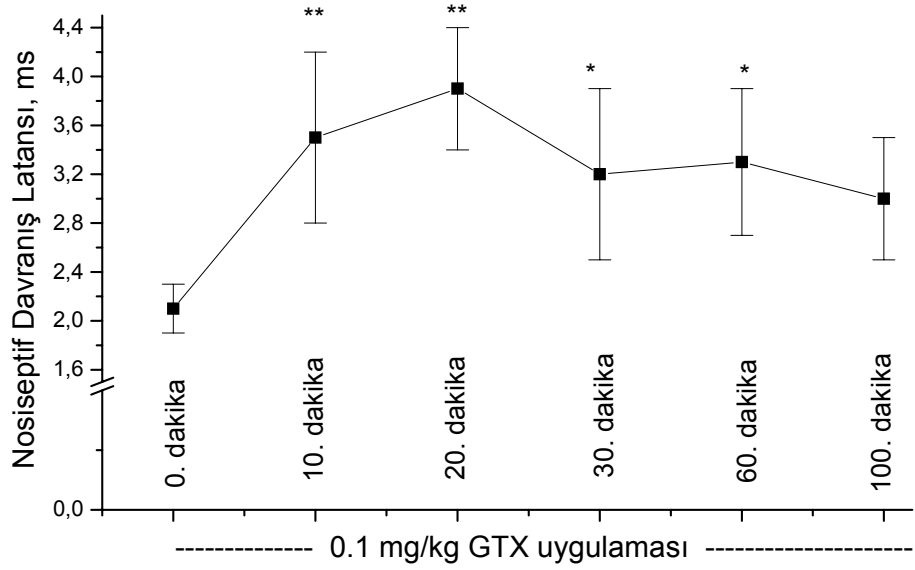
	Normoglisemik Akut Ağrı Grubu Ağrı Eşiği Değerleri (sn)					
	0. dakika	10. dakika	20. dakika	30. dakika	60. dakika	100. dakika
<b>Kontrol</b>	2.4±0.5	2.3±0.3	2.5±0.4	2.6±0.5	2.5±0.4	2.6±0.5
<b>0.05 mg/kg GTX</b>	2.0±0.3	2.5±0.7	2.8±0.6	3.1±0.6	3.0±0.5	3.0±0.6
<b>0.1mg/kg GTX</b>	2.1±0.2	3.5±0.7	3.9±0.5	3.2±0.7	3.3±0.6	3.0±0.5
<b>0.2mg/kg GTX</b>	2.4±0.4	3.1±0.6	3.0±0.3	2.9±0.5	3.0±0.5	3.2±0.7

Plantar Analjezimetri testi uygulanan normal farelerin ağrı eşiği değerleri. Normal farelerde etanol ve GTX'in (0.05,0.1 ve 0.2 mg/kg, i.p.) uygulamasının ağrı eşiği üzerine etkisi. GTX'in uygulama öncesi ve sonrası istatistiksel analizi için tekrarlayan ölçümlerde varyans analizi testi, kontrol grubu v. GTX'in uygulamalarını karşılaştırmak amacıyla Dunnet's testi kullanılmıştır. n=10 her bir uygulama gurubu için, p<0.05, p<0.01.

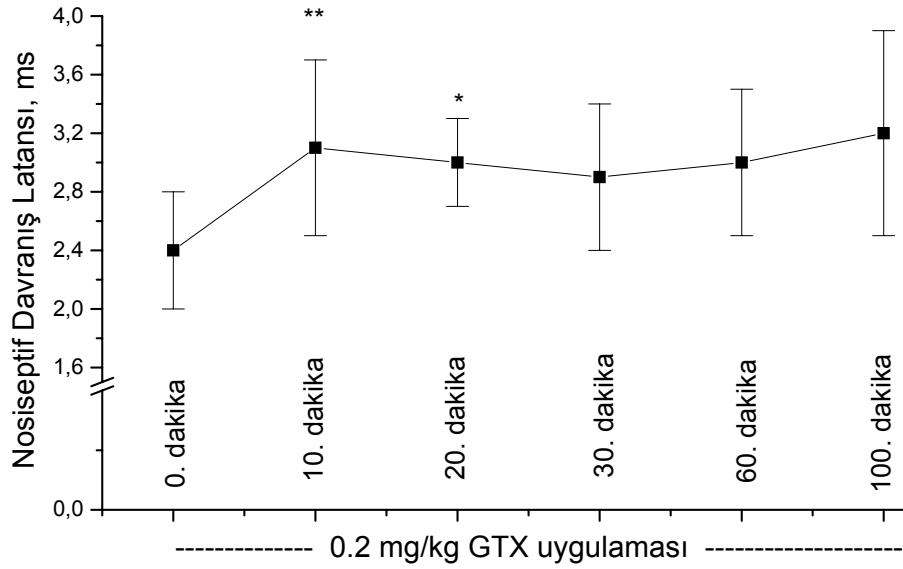




**Grafik 3. Akut Ağrı Grubunda Latans Ölçümü (0.05 mg/kg GTX Sonrası)**



**Grafik 4. Akut Ağrı Grubunda Latans Ölçümü (0.1 mg/kg GTX Sonrası)**



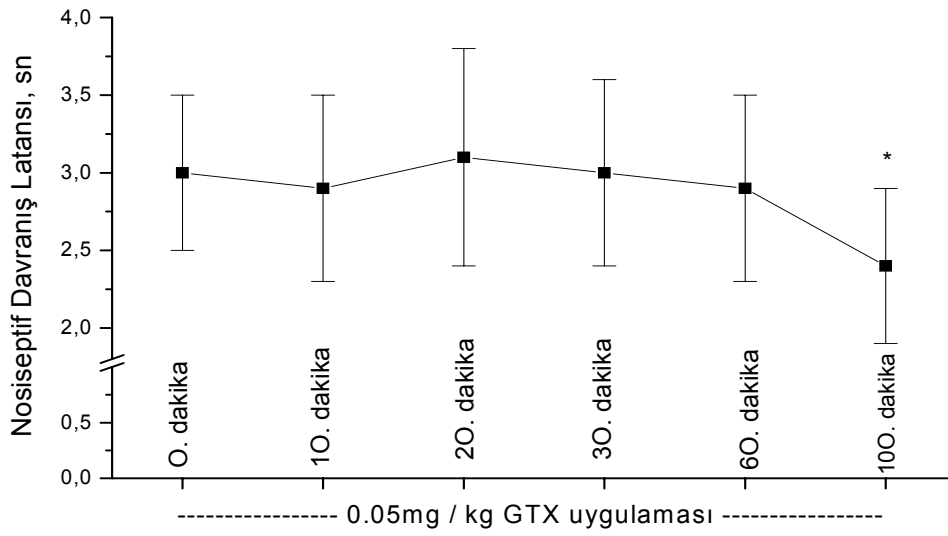
**Grafik 5. Akut Ağrı Grubunda Latans Ölçümü (0.2 mg/kg GTX Sonrası)**

Akut ağrı modelinde istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar çıktı.10. dakikada latanslarda artış gözlemlendi. İkinci normoglisemik grupta 0.1 mg/kg GTX uygulanan normoglisemik farelerde 20. Dakikada latanslar iki katına çıktı(Grafik 4). GTX öncesi 2.1sn olan latans 20.dakikada 3.9 sn idi(Grafik 4). Latanslarda yükseklik 100. Dakika da devam etti. GTX normoglisemik farelerin ağrı eşliğini pozitif yönde olumlu etkiledi.

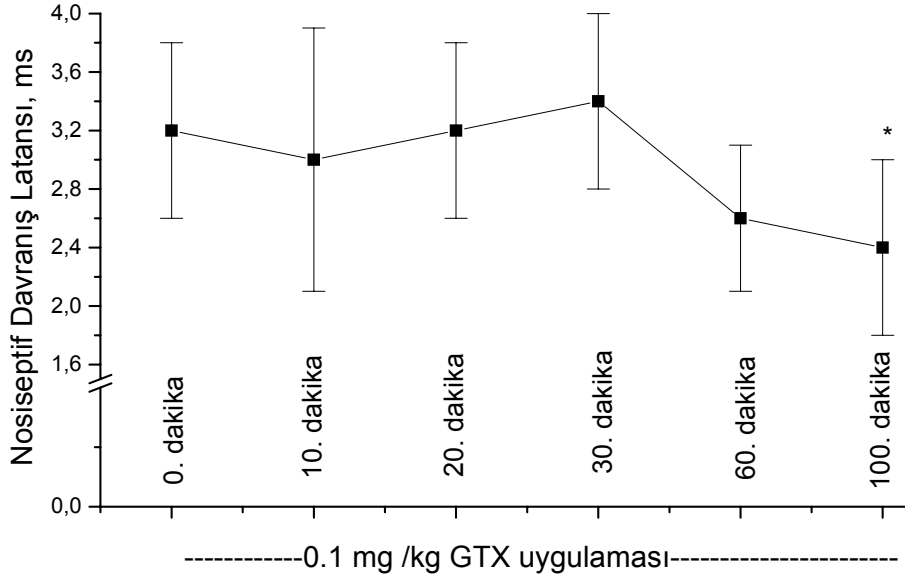
**Tablo 7. Diabetik Nöropati Grubu**

	Diabetik Nöropati Grubu Ağrı Eşiği Değerleri (sn)					
	0. dakika	10. dakika	20. dakika	30. dakika	60. dakika	100. dakika
<b>Kontrol</b>	2.4±0.5	2.3±0.3	2.5±0.4	2.6±0.5	2.5±0.4	2.6±0.5
<b>0.05mg/kg GTX</b>	3.0±0.5	2.9±0.6	3.1±0.7	3.0±0.6	2.9±0.6	2.4±0.5
<b>0.1mg/kg GTX</b>	3.2±0.6	3.0±0.9	3.2±0.6	3.4±0.6	2.6±0.5	2.4±0.6
<b>0.2mg/kg GTX</b>	3.2±0.4	2.9±0.7	3.0±0.8	3.2±0.7	2.6±0.8	2.4±0.5

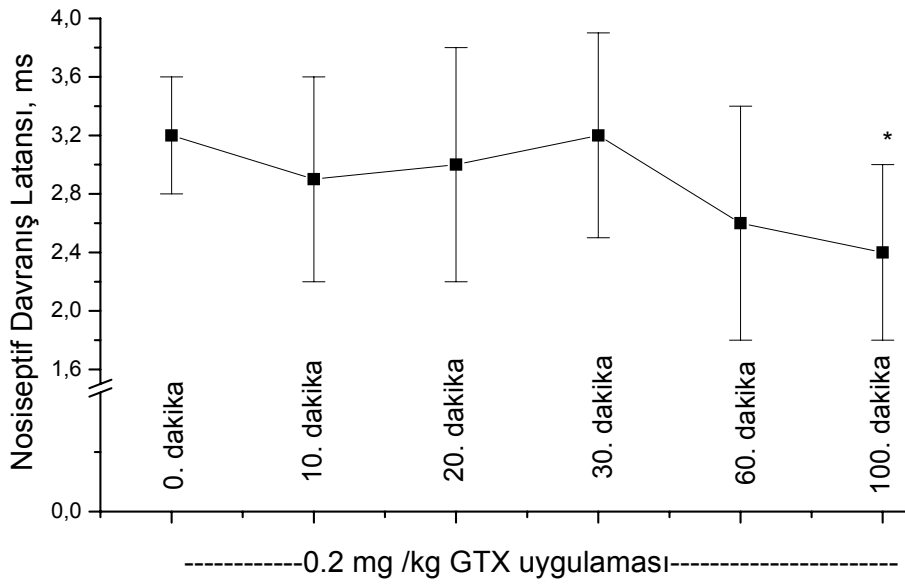
Plantar Analjezimetre testi uygulanan diabetik nöropatik farelerin ağrı eşiği değerleri. Normal farelerde etanol ve GTX'in (0.05,0.1 ve 0.2 mg/kg, i.p.) uygulamasının ağrı eşiği üzerine etkisi. GTX'in uygulama öncesi ve sonrası istatistiksel analizi için tekrarlayan ölçümlerde varyans analizi testi, kontrol grubu v. GTX'in uygulamalarını karşılaştırmak amacıyla Dunnet's testi kullanılmıştır. n=15 her bir uygulama gurubu için,  $p<0.05$ .



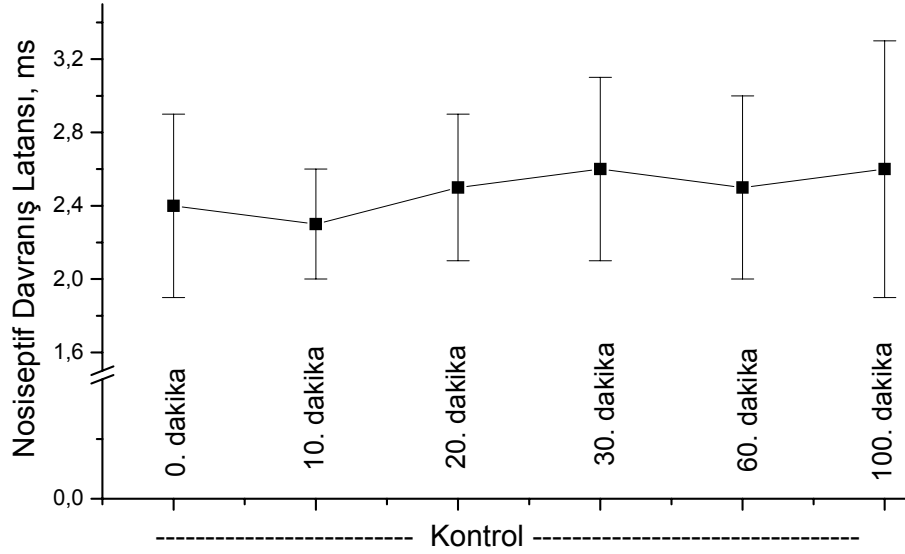
**Grafik 6. Diyabetik Nöropati Grubunda Latans Ölçümü (0.05 mg/kg GTX Sonrası)**



**Grafik 7. Diyabetik Nöropati Grubunda Latans Ölçümü (0.1 mg/kg GTX Sonrası)**



**Grafik 8. Diyabetik Nöropati Grubunda Latans Ölçümü (0.2 mg/kg GTX Sonrası)**



**Grafik 9. Kontrol Grubu Ağrı Latans Ölçümü**

Deneysel çalışmalara başlamadan önce, çıkabilecek aksaklıkların asgariye indirilmesi amacıyla bütün gruplara 1 hafta boyunca plantar analjezimetri testine alıştırma periyotları uygulandı. Başlangıçta farelere herhangi bir enjeksiyon yapılmadan önceki ağrı eşiği değerleri belirlendi. Grayanotoksin'in(GTX) diyabetik nöropatide etkisini ölçmek için i.p GTX yapılan farelere plantar Analjezimetri testi uygulandı. Üç farklı doz sonrası 0.10.20.30.60. ve100.dk test sonuçları kaydedildi.

Sonra normoglisemik sağlam farelerden oluşan üç gruba farklı üç doz GTX uygulandı. Bu gruplarda aynı süreler baz alınarak teste tabi tutuldu.

En sonunda kontrol grubu teste tabi tutuldu. GTX çözmek için kullanılan etanol ve serum fizyolojik maddelerinin çalışmaya olan tesirini ekarte etmek için, i.p uygulanan etanol sonrası kontrol grubu plantar analjezimetri testine tabi tutuldu. Bütün ölçümler tamamlanıp kayıtları tutuldu.

Diyabetik nöropati yapılan farelerde düşük doz GTX uygulanişından sonra latanslarda değişiklik olmadı. Altmışını ve 100 dk. nöropatik latansında altına düştü. 0.05

mg GTX uygulanan ilk diyabet grubunun latansı GTX uygulamadan önce  $3.0 \pm 0.5$  sn iken 100.dk da  $2.4 \pm 0.5$  sn. oldu (Grafik 6). Yüksek doz 0.2 mg/kg GTX kullanımında başlangıç latansı  $3.2 \pm 0.4$  sn. iken 100.dk.  $2.4 \pm 0.5$  sn. oldu (Grafik 8). Farelerin latansları nöropatik olmadan önceki latanslarına geriledi.

Akut ağrı çalışmasında ise normogilisemik farelerin ilk latanslarından sonra i.p GTX uygulanımı yapıldı. Düşük doz 0.05mg/kg GTX den sonra başlangıçta  $2.0 \pm 0.3$  sn olan ağrı eşiği 10.20.30.60.100. dakikalarda ki ölçümlerde istatistiksel olarak arttı (Grafik 3) . Başlangıç latansları  $2 \pm 0.3$  sn,  $2.1 \pm 0.3$  sn,  $2.4 \pm 0.4$  sn olan üç gruba verilen farklı doz GTX ten sonra 10. dakikadan itibaren farelerin ağrı eşiklerini (latanslarını) yükselttiği saptandı.100. dakikada 0.05mg/kg GTX uygulanan grubun latansı  $3,0 \pm 0.6$  sn olurken diğer gruplarında latansları benzer şekilde arttı(Grafik 3). Gruplarında latansları (0.1 mg/kg GTX  $3.0 \pm 0.5$  sn.0.2 mg/kg GTX  $3.2 \pm 0.7$  sn) idi(Grafik 4,5) . Onuncu dakikada 0.05mg /kg GTX kulanıldığında latans değerleri  $2.5 \pm 0.7$  sn iken 0.1 mg/kg da  $3.5 \pm 0.7$  sn ve 0.2 mg/kg da  $3.1 \pm 0.6$  sn oldu(Grafik 3,4,5) . 30. dk, 60.dk.ve 100.dk. da uygulanan üç dozda da latans değerlerinin birbirine yakın olduğu görüldü. Altmışınca dakika latans değerleri sırasıyla 0.05mg/kg GTX dozunda  $3.0 \pm 0.5$  sn, 0.1 mg/kg GTX için  $3.3 \pm 0.6$  sn. 0.2 mg /kg GTX için  $3.0 \pm 0.5$  sn. idi( Grafik 3,4,5).

## 5. TARTIŞMA

Akut ağrı vücut için bir uyarıcı olarak vazife yapar. Akut ağrı tedavisinde tıp büyük bir ilerlemeler kaydetmiş tedavi yöntemleri konusunda çok alternatifler üretmiştir. Nöropatik ağrı ise ağrı sendromları içinde tedavi edilmesi en güç olanlardan birisidir. Nöropatik ağrı yaklaşık olarak insan popülasyonunun % 1'ini etkilemektedir. Nöropatik ağrı birçok nöropati tipiyle birliktelik gösterir. En sık sebebi diyabetik nöropatidir (32,31).

Nöropatik ağrının farklı mekanizmalarla oluşması tedaviyi güçleştirir. En sık görülen şekli diyabetik nöropatidir. Diyabetik nöropati tedavisinde ise en etkin yöntem glisemi kontrolüdür. DCCT'de de gösterilmiştir ki intensif insülin tedavisi ile iyi bir kan şekeri regülasyonu nöropati riskini %56 azaltmaktadır. Tip2 DM'lilerle ilgili en büyük ve en uzun çalışma olan UKPDS'de KŞ regülasyonun vibrasyon algılanmasını düzelttiği gösterilmiştir Glisemi kontrolü nöropati riskini azaltmakla birlikte kesin bir tedavi yöntemi değildir. (58,72).

Bu yüzden alternatif bir çok farmakolojik ilaç piyasaya sürülmüş ve nöropati için çözüm aranmıştır. Aldoz Redüktaz İnhibitörleri (ARI'ler): Poliol yolakta etkili olan aldoz redüktaz enzimini inhibe ederek sorbitol ve fruktoz birikimini önlerler. ARI'ler olarak kullanılan ilaçlar; spirohydantoin'ler (sorbini), karboksilikasit deriveleri (tolrestat, ponalrestat ve epalrestat) ve flavonoidlerdir. Simetrik polinöropatisi olan 218 DM'li hastada 1 yıl süre ile tolrestat kullanılmış ve sonuçta vibrasyon hissi ile otonomik

fonksiyon testlerinde düzelme olduğu bildirilmiştir. ARI'lerin birçoğu toksisite veya etkisizlik nedeniyle kullanımdan çekilmiştir (sorbiniil, tolrestat, ponalrestat vs) (82).

Alfa-Lipoik Asit: Provat dehidrogenaz enzim sisteminde kofaktör olarak etkinlik gösterir, tioktiktikasit olarak da bilinir ve tiol eksikliğini tamamlayarak antioksidan etki gösterir. Hem somatik hem de otonom DN'de etkili olduğu gösterilmiştir (82).

Gamma-Linoleik asit (GLA): Esansiyel yağ asidi olan linoleik asit, linolenik aside metabolize olur. GLA nöron membran fosfolipitlerinin önemli bir komponenti olup, sinir kan akımının korunmasında rol oynar. DM'de linoleik asidin, linolenik asit ve diğer komponentlere dönüşümü bozulmuştur. GLA'nın önemli kaynağı olan EPO (Evening Primrose Oil-Çuha yağı) ile yapılan bir çalışmada 8-10 haftalık bir tedavi sonucunda etkinlik gösterdiği ve DN'de semptomatik düzelme sağladığı bildirilmiştir. Bir yıl süren çok merkezli bir çalışmada GLA kullanan hastalarda klinik ve elektrofizyolojik testlerde düzelme gözlenmiştir (83).

AGE İnhibitörleri (Aminoguanidin): İlerlemiş glikolizasyon son ürünlerini (GLA) inhibe eder. Dolaşımdaki AGE peptidleri, kollajenle kuvvetli bir şekilde çaprazlaşma oluşturarak diyabetik mikrovasküler komplikasyonlarda rol oynayabilir. Aminoguanidin ile yapılan çalışmalarda aminoguanidine benzer peptidler veya AGE çaprazlaşmasını yeni moleküllerle AGE inhibisyonu yolu ile DM'de komplikasyonların önlenmesinde alternatif tedavi modeli olarak araştırılmak üzere durmaktadır (83).

Protein Kinaz C (PKC) İnhibitörlerinden streptozosin ile diyabet yapılmış sıçanlarda PKC-beta inhibisyonu ile aorta ve korpus kavernozumda bozulmuş NO'ya bağımlı endotel disfonksiyonu üzerine faydalı etki gözlenmiştir (83). İnsan İntravenöz İmmüoglobulini: Antinöral otoimmünite ile birlikte olan periferik DN'li bazı hastalarda İV. İmmüoglobulin



tedavisinin yararlı olduğu, iyi tolere edildiği ve genellikle güvenli olduğu bildirilmektedir. (82,83).

Gabapentin; yapısal olarak  $\gamma$ -amino bütirik asit (GABA) ile benzer olması nedeniyle ağrı, iletim ve modülasyonunda rol oynar. GABA ile kompetitif inhibisyona girerek etki gösterir. Beyinde GABA'yı artırır ve plazma serotonin düzeyini yükseltir. Ağrıyı azaltan etkisinin hangi mekanizma ile olduğu yeterince açığa çıkarılamamıştır. Ancak esas etkinliği N tipi kalsiyum kanallarının blokajıdır (84,86,87,88,89). Trisiklik Antidepresanlar; Sinapslarda norepinefrin ve serotonin geri alımını inhibe ederler. Hiperaleziye neden olan N-metil-D-aspartat reseptörünü antagonize ederler. Bu ilaçlar ağrının santral algılanmasını değiştirerek etkili olurlar (89).

Vitamin E, prostasiklin analogları, ET-A reseptör antagonistleri, antianjiyogenik ajanlar (GH reseptör antagonisti, ocreotid, Cox-2 **inhibitörleri** vs), thiazolidinedionlar, statinler, vazodilatatörler, sildenafil, non-steroid antiinflamatuvarlar, topikal kapsaisin, lokal anestezikler (meksiletin), opioidler, nörokinin reseptör antagonistleri (lanepitant), tramadol, insülin, klonidin, kalsitonin, dekstrometorfan, c-peptid, karbamezapin, fenitoin, perkütan elektrikle sinir uyarılması ve sinir blokajı sayılabilir (72,82,83).

Hastalar için etkili olduğu kanıtlanmış terapötik bir ilaç ya da ilaç grubu yoktur.

Farmakolojik tedavilerin çoğunluğu nöropatik ağrının oluşumundan sorumlu hızlı Na<sup>+</sup> kanalları ve ektojik deşarjları azaltmaya odaklanmıştır. Bu bozukluklar ya Na<sup>+</sup> kanal antagonistleri ile ya da spinal nörotransmisyonu inhibe eden ilaçlarla düzeltilir (9). Bununla birlikte mevcut kanıtlar bir ilacın diğerine üstünlüğünü desteklememektedir.

Grayanotoksinler, hücre membranlarındaki sodyum kanallarına bağlanarak toksik etkilerini gösterirler. Uyarılabilen membranlarda sodyum iyonlarının permeabilitesini artırır. Bu etkiye bağlı olarak negatif kronotrop ve negatif inotrop etki görülür. Maejima

ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada grayanotoksinin voltaj bağımlı Na kanalları üzerine etkisinin 3 aşamalı olduğu belirtilmiştir. İlk olarak grayanotoksin voltaj bağımlı kanalların açılma fazında bu kanallara bağlanır. Daha sonra kanallar modifiye olur. En son olarak da modifiye Na kanallarının aktivasyon potansiyeli hiperpolarizasyonuna neden olur. Bu durum hücre membranında voltaj bağımlı aktivasyon veya inaktivasyona neden olur (3). Na kanallarına olan etkisinden yola çıkarak ve halk arasında yaygın ağrı kesici olarak kullanılmasından dolayı deli bal grayanotoksinin ağrı kesici etkisi araştırmaya değer bir konu olarak düşünülmüştür.

Bu çalışmada kullandığımız ağırlı nöropati modeli olarak kemirgenlerin kullanımı hem sinir sisteminin elektriksel ve nörokimyasal aktivitelerinin hem de duysal uyarana davranış cevaplarının değerlendirilebilmelerine olanak tanır. Diyabetik rat ve farelerde erken dönemde sinir iletim yavaşlamaları olur. Kemirgenlerin ağırlı nöropatisinde, fizyolojik, nörokimyasal ve davranışsal değişikliklerin ana nedeni hiperglisemidir. Diyabetik ratlarda davranış çalışmaları hiperaljezi ve allodini testleri ile yapılır. Kuyruk veya pençenin sığağa maruz bırakılmasıyla hayvanın ekstremitelerini çekme süresi, hiperaljezi ve hipoaljeziyi belirleme yöntemi olarak değerlendirilir (73-74).

Halk arasında ağrı tedavisinde yaygın olarak kullanılan deli balın (grayanotoksin), literatürde bu etkisine ait yapılmış bir çalışma bulunmamaktadır. Na kanalları üzerine etkili olan grayanotoksinin bu kanalları modifiye ettiği bilinmektedir. Deli balın ağrı üzerindeki etkisini gösteren çalışma henüz yoktur. Bu deneysel çalışma ile deli balın (grayanotoksin) akut ve kronik ağrı (diabetik nöropatik ağrı) üzerine etkisi olup olmadığının araştırıldı.

Çalışmada diabetik nöropatili vakalar da ki ağrı ve normoglisemik farelerde oluşturulan akut ağrı üzerinde çalışıldı.

Çalışma protokolü doğrultusunda oluşturulan diyabetik nöropatik farelere protokolde belirtilen dozlarda i.p GTX uygulandı. 0.10.20.30.60.100.dakikalarda latansları ölçülen farelerin ilk ölçümlerde yani 0-10-20-30 dakikalarda önemli latans artışı ve düşüşü olmadı. 60. ve 100.dakikalarda latansların önemli bir şekilde düştüğü görüldü. Bu dakikalarda ortalama 2.4sn. düzeyine kadar düşen farelerdeki latans düzeyi diabet öncesi latanslarına (2.1sn) çok yaklaştı. Bu bulgular doğrultusunda nöropatili farelerin latanslarının GTX verildikten sonra nöropati öncesi değerlere yaklaşması GTX'nin nöropati üzerinde iyileştirici yönde etkisinin olduğunu düşündürmüştür.

Diabetik nöropatik  $3.0 \pm 0.5$  sn latanslı farelere 0.05mg/kg GTX verdikten sonra latanslar 10.dk.  $2.9 \pm 0.6$  sn, 20.dk  $3.1 \pm 0.7$  sn, 30. Dk.  $3.0 \pm 0.6$  sn, 60.dk  $2.9 \pm 0.6$  sn ve 100.dk  $2.4 \pm 0.5$  sn oldu(Grafik 6) . Latansların; nöropatik farelerde GTX verildikten sonra nöropati öncesi değerlerine istatistiksel anlamlı olarak yaklaştığı görüldü ( $p < 0.05$ ). 0.1 mg/kg GTX verilmeden önce latanslar  $3.2 \pm 0.6$  sn.iken, 10 dakika  $3.0 \pm 0.9$  sn,20 dakika  $3.2 \pm 0.6$  sn, 30. dakika  $3.4 \pm 0.6$  sn, 60. dakika da  $2.6 \pm 0.5$ sn ve 100. dakika da  $2.4 \pm 0.6$  sn oldu( $p < 0.05$ ) (Grafik 7) . Bu değerlerde farelerin nöropati öncesi değerlerine yaklaşık değerlerdi. 0.2 mg/kg GTX verilen farelerde i.p öncesi latans  $3.2 \pm 0.4$  sn iken 60.dakika  $2.6 \pm 0.8$  sn. ve 100. dakika da  $2.4 \pm 0.5$  sn. oldu ( $p < 0.05$ ) (Grafik 8) . Bu grubun latans değerleri de istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde nöropati öncesi değerlere yaklaştı ( $p < 0.05$ ). Üç farklı GTX dozunun latanslara etkisinin birbirine üstünlüğü görülmedi.

Aku ağrı üzerine yapılan çalışma normoglisemik farelerde denendi. Başlangıç latansları  $2 \pm 0.3$  sn,  $2.1 \pm 0.3$  sn,  $2.4 \pm 0.4$  sn olan üç gruba verilen farklı doz GTX ten sonra 10. dakikadan itibaren anlamlı şekilde farelerin ağrı eşiklerini (latanslarını) yükselttiği saptandı.100. dakikada 0.05mg/kg GTX uygulanan grubun latansı  $3,0 \pm 0.6$  sn olurken diğer gruplarında latansları benzer şekilde arttı. Gruplarında latansları (0.1 mg/kg GTX  $3.0 \pm 0.5$

sn.0.2 mg/kg GTX  $3.2\pm 0.7$  sn) idi ( $p<0.05$ ). Bu gruplardaki GTX doz farkı latans değerlerinde farklılıklar oluşturdu. Onuncu dakikada 0.05mg /kg GTX kullanıldığında latans değerleri  $2.5\pm 0.7$  sn iken 0.1 mg/kg da  $3.5\pm 0.7$  sn ve 0.2 mg/kg da  $3.1\pm 0.6$  sn oldu( $p<0.01$ ). 30. dk, 60.dk.ve 100.dk. da uygulanan üç dozda da latans değerlerinin birbirine yakın olduğu görüldü (Grafik 3,4,5). Altmışınca dakika latans değerleri sırasıyla 0.05mg/kg GTX dozunda  $3.0\pm 0.5$  sn, 0.1 mg/kg için  $3.3\pm 0.6$  sn. 0.2 mg /kg için  $3.0\pm 0.5$  sn. idi. Burada elde edilen bulgular normoglisemik farelerde GTX'nin farklı dozlarda farklı etkinliği olmakla beraber ağrı eşiğini istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yükselttiği görüldü. Bu durum GTX'nin akut ağrı üzerinde ağrıyı önleyici etkisinin olabileceği yönünde düşüncenin oluşmasına neden oldu.

GTX kullanımından hemen sonra akut etkinin daha 10.dk. başlaması ve 100 dk. kadar devam etmesi etkinliğin periyodu hakkında da bize bilgi verdi. GTX öncesi latansı  $2.5\pm 0.7$  sn ortalaması olan grubun 0.1 mg/kg GTX uyguladıktan sonra latansları 10. dakika da  $3.5\pm 0.7$  sn ve 20. dk  $3.9\pm 0.5$ sn ölçüldü ve değer artışları istatistiki olarak anlamlı bulundu ( $p<0.01$ ). 0.1 mg/kg GTX uygulanan farelerin 20. dakikada ki latans değerleri iki katına çıktı. 30. dakikada  $3.2 \pm 0.7$  sn, 60. dakika da  $3.3\pm 0.6$ sn ölçüldü ve istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $p<0.05$ ).0.2 mg/kg i.p GTX uygulanan farelerde uygulama öncesi latans  $2.4\pm 0.4$  sn iken 10.dakikada  $3.1\pm 0.6$ sn ( $p<0.01$ ) anlamlı iken 20. dakika da  $3.0\pm 0.3$ sn ( $p<0.05$ ) anlamlı bulundu (Grafik 3,4,5). Bu bulgulara göre erken dönemde latans artışı fazla olmakta bu artış zamanla azalmaktadır. GTX'nin ağrı üzerindeki etkisinin zamansal farklılıklar gösterdiğini düşünebiliriz.

GTX'nin nöropatik ağrıda latansı düşürmesi diabetik nöropatinin tedavi uygulamalarında faydalı olabileceği yönünde düşüncenin oluşmasına neden olmuştur. Nöropatik yapılan farelere uzun dönem GTX uygulayımını içeren çalışmaların yapılması

bu verilerin doğruluğunun kontrolünü sağlayabilir. GTX normoglisemik sağlam farelerdeki akut ağrıda ise ilk dakikalardan latansı yükseltip farelerin daha geç ağrıyı hissetmesine neden oldu. Alternatif tıpta ağrı kesici olarak kullanılan deli bal (grayanotoksin) bu çalışmadaki bulgular ışığında yeni laboratuvar ve klinik çalışmalar ile desteklenerek modern tıbbın kullanımına sunulabilir.

## 6. SONUÇLAR

Nöropatik ağrı farklı nedenleri ve mekanizması olan heterojen bir durumdur. Dünyada milyonlarca insanı etkileyen daha çok kronik hastalıkların komplikasyonu olarak ortaya çıkmaktadır. En yaygın nedeni ise diabetik nöropatidir.

Nöropatide farklı tedaviler kullanılmış fakat tedavide prototip bir ilaç ya da metot bulunamamıştır. Bunun için yeni farmakolojik ajanlara ve yeni tedavi metotlarına ihtiyaç vardır.

Çalışmamızda elde ettiğimiz bulgular sonucunda normoglisemik farelerde oluşturulan akut ağrıda GTX istatistiki olarak anlamlı olarak latansları yükseltti ( $p<0.05$ ). Latans değeri yüksekliği ölçülen zaman dilimlerinde (0-10-20-30-60-100 dk.) grupların tamamında istatistiksel anlamlı olarak yüksekti. Etki onuncu dakikadan 100. dakikaya kadar devam etti.

Deney protokolüne uyularak oluşturulan diabetik nöropatili farelere grayanotoksin verilerek elde edilen sonuçlara göre yüksek latans değerleri bulunan farelerin latansları GTX verildikten sonra düşmüştür. Latans değerleri noropati olmadan önceki latans değerlerine yakın hale gelmiştir. Bu çalışma, GTX'in nöropatide iyileştirici etkiye sahip olabileceği kanaatini oluşturmuştur.

GTX'in kronik uygulananından sonra latanslara etkisinin nasıl olacağı başka çalışmalar planlanarak bulunabilir.

## 7. ÖZET

### DELİ BALIN (GRAYANOTOXİN) AKUT VE KRONİK AĞRI DAVRANIŞI ÜZERİNE ETKİSİ

**Giriş:** Bu çalışmada alternatif tıpta bir çok kullanım amacının yanında ağrı kesici olarak da kullanılan deli bal'ın (grayanotoksin) akut ve kronik ağrı (diabetik nöropatik ağrı) üzerine etkisinin gerçekte olup olmadığının araştırılması amaçlanmıştır.

**Materyal ve Metod:** Çalışma hayvan deneyi çalışması olarak yapıldı. Akut ağrı için normoglisemik fareler, nöropatik ağrı için streptozicin uygulayarak diyabet yapılmış fareler kullanıldı. 7 gruptan oluşan deneyde farelerin "plantar analjezimetri" testiyle latanslarına bakıldı. Diyabetik nöropati yapılan farelerin tekrardan latanslarına bakılıp, nöropatik olduktan sonraki latansları da kaydedildi. Çalışmanın son aşamasında GTX (grayanotoksin) i.p uygulanan farelerin, GTX uygulandıktan sonra belirli zaman dilimlerinde ve farklı dozlarda ki latansları kaydedildi.

**Bulgular:** Akut ağrı için yapılan çalışmada, 3 farklı doz şeklinde verilen GTX latans değerlerini istatistiksel olarak anlamlı şekilde artırdı ( $P < 0.05$ ). 0.1 mg/kg GTX uygulandıktan sonra 10. dakikada latans ( $3.5 \pm 0.7$  sn) ve 20. dakika ( $3.9 \pm 0.5$ sn) olarak bulundu. GTX kullanımından hemen sonra akut etkinin daha 10.dk. başlaması ve 100 dk. kadar devam etmesi etkinliğin periyodu hakkında da bize bilgi verdi. GTX öncesi latansı  $2.5 \pm 0.7$  sn ortalaması olan grubun 0.1 mg/kg GTX uygulandıktan sonra latansları 10. dakika da  $3.5 \pm 0.7$  sn ve 20. dk  $3.9 \pm 0.5$ sn ölçüldü ve değer artışları istatistiksel olarak anlamlı bulundu

( $p < 0.01$ ). 0.1 mg/kg GTX uygulanan farelerin 20. dakikada ki latans değerleri iki katına çıktı. 30. dakikada  $3.2 \pm 0.7$  sn, 60. dakika da  $3.3 \pm 0.6$ sn ölçüldü ve istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $p < 0.05$ ). 0.2 mg/kg i.p GTX uygulanan farelerde uygulama öncesi latans  $2.4 \pm 0.4$  sn iken 10.dakikada  $3.1 \pm 0.6$ sn ( $p < 0.01$ ) anlamlı iken 20. dakika da  $3.0 \pm 0.3$ sn ( $p < 0.05$ ) anlamlı bulundu. Nöropatik ağrı uygulamasında diabetik nöropatik farelerin latansında, GTX üç ayrı dozda da başlangıçta bir değişiklik yapmazken 60.ve 100. dakikalarda istatikselsel olarak anlamlı bir düşüş yaşandı ( $p < 0.05$ ). Latasların; nöropatik farelerde GTX verildikten sonra, nöropati öncesi değerlerine istatistiksel anlamlı olarak yaklaştığı görüldü ( $p < 0.05$ ). 0.1 mg/kg GTX verilmeden önce latanslar  $3.2 \pm 0.6$  sn.iken, 10 dakika  $3.0 \pm 0.9$  sn,20 dakika  $3.2 \pm 0.6$  sn, 30. dakika  $3.4 \pm 0.6$  sn, 60. dakika da  $2.6 \pm 0.5$ sn ve 100. dakika da  $2.4 \pm 0.6$  sn oldu( $p < 0.05$ ). Bu değerlerde farelerin nöropati öncesi değerlerine yaklaşık değerlerdi. 0.2 mg/kg GTX verilen farelerde i.p öncesi latans  $3.2 \pm 0.4$  sn iken 60.dakika  $2.6 \pm 0.8$  sn. ve 100. dakika da  $2.4 \pm 0.5$  sn. oldu ( $p < 0.05$ ). Bu grubun latans değerleri de istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde nöropati öncesi değerlere yaklaştı ( $p < 0.05$ ).

**Sonuç:** GTX'nin nöropatik ağrıda latansı düşürmesi diabetik nöropatinin tedavi uygulamalarında faydalı olabileceği yönünde düşüncenin oluşmasına neden olmuştur. Nöropatik yapılan farelere uzun dönem GTX uygulananını içeren çalışmaların yapılması bu verilerin doğruluğunun kontrolünü sağlayabilir. GTX normoglisemik sağlam farelerdeki akut ağrıda ise ilk dakikalardan latansı yükseltip farelerin daha geç ağrıyı hissetmesine neden oldu. Alternatif tıpta ağrı kesici olarak kullanılan deli bal (grayanotoksin) bu çalışmadaki bulgular ışığında yeni laboratuvar ve klinik çalışmalar ile desteklenerek modern tıbbın kullanımına sunulabilir.



## 8. SUMMARY

### EFFECT OF MAD HONEY (GRAYANOTOXIN) ON ACUTE AND CHRONICLE PAIN BEVIOUR

**Introduction:** Aim of this study is to investigate whether mad honey can be used to reduce pain in acute and chronicle pain (diabetic neuropathic pain) as used as pain killer in alternative medicine.

**Material and Methods:** This study was made as an animal experiment. For acute pain, normoglycemic mice; for neuropathic pain, mice having diabetes mellitus by giving streptozocine were used. After making seven groups of mice, their latencies were measured with plantar analgesymeter. Latency of mice with diabetic neuropathy was measured again after being diabetic neuropathy and their latencies were saved to data. At the final stage of study, mice treated with grayanotoxin were measured for their latencies for different doses and times of giving GTX.

**Findings:** In the study for acute pain, GTX given 3 different doses increased latencies statistically significantly ( $P < 0.05$ ). After GTX given 0.1 mg/kg latency was  $3.5 \pm 0.7$  sn at the 10th minute and was  $3.9 \pm 0.5$ sn at the 20th minute. Acute effect of GTX started immediately at the 10th minute and continued to 100th minute, this showed us the period of effect.. Before GTX the latency of a group was  $2.5 \pm 0.7$  sn, after given 0.1 mg/kg GTX latency was  $3.5 \pm 0.7$  sn at the 10th minute, and  $3.9 \pm 0.5$  sn at the 20th minute, this was stastically significant ( $p < 0.001$ ). Latencies of mice given 0.1 mg/kg GTX was about two

times at the 20th minute. Latency was  $3.2 \pm 0.7$  sn at the 30th minute and  $3.3 \pm 0.6$  sn at the 60th minute, this was statistically significant. Latency in mice given 0.2 mg/kg GTX i.p. was  $2.4 \pm 0.4$  sn before GTX, was  $3.1 \pm 0.6$ sn ( $p < 0.01$ ) at the 10th minute,  $3.0 \pm 0.3$ sn ( $p < 0.05$ ) at the 20th minute, both of them was statistically significant.

In neuropathic pain study, GTX made no difference in three different doses first, but decreased latencies significantly at the 60th and 100th minutes ( $p < 0.05$ ). Latencies in neuropathic mice were similar to normal after given GTX ( $p < 0.05$ ). Before GTX given 0.1 mg/kg latency was  $3.2 \pm 0.6$  sn, after GTX latency was  $3.0 \pm 0.9$  sn at the 10th minute,  $3.2 \pm 0.6$  sn at the 20th minute,  $3.4 \pm 0.6$  sn at the 30th minute,  $2.6 \pm 0.5$ sn at the 60th minute,  $2.4 \pm 0.6$  sn at the 100th minute ( $p < 0.05$  sn). These were similar to before being neuropathic in mice. Latency in mice given 0.2 mg/kg GTX i.p. was  $3.2 \pm 0.4$  sn before GTX,  $2.6 \pm 0.8$  sn at the 60th minute,  $2.4 \pm 0.5$  sn at the 100th minute ( $p < 0.05$ ). In this group latencies were similar to onset values before neuropathy as the other group ( $p < 0.05$ ).

**Conclusion:** In neuropathic pain decrease of latencies after given GTX showed that GTX can be used for treatment diabetic neuropathy. Study of long term giving GTX to neuropathic mice can evaluate the accuracy of these data. In normoglysemic mice GTX increased the latency from first minutes and made mice to feel the pain late. Mad honey (grayanotoxin) which is used for pain killer in alternative medicine can be used in modern medicine supported with further laboratory and clinically studies.

## 9. KAYNAKLAR

1. Viccellio P. Systemic poisonous plant intoxication. Handbook of Medical Toxicology. Washington: Library of Congress Cataloging, 1993:718 ).
2. Koca İ., Koca F.A. Poisoning by mad honey: A brief review. Food and Chem. Toxicol. (2007), doi:10.1016/j.fct.2007.04.006
3. Maejima H, Kinoshita E, Seyama I, Yamaoka K. Distinct sites regulating grayanotoxin binding and unbinding to D4S6 of Na(v)1.4 sodium channel as revealed by improved estimation of toxin sensitivity. J Biol Chem 2003;278:9464-71.
4. Gunduz A., Turedi S., Russell R.M., Ayaz F.A. Clinical Review of Grayanotoxin/ mad honey poisoning past and present. Clinical toxicology (2008) 46,437-442.
5. Bařgöl A. Deli Bal Zehirlenmesi. Yoğun Bakım Dergisi 2003;3(1):33-36).
6. Merskey H, Bogduk N, editors. International association for the study of pain. IASP pain terminology. Classification of chronic pain. 2rd ed. IASP Press; 1994.
7. Max MB. Clarifying the definition of neuropathic pain. Pain 2002)
8. Backonja M. Defining neuropathic pain. Anesth Analg 2003; 97:9)

9. İrdesal J. Nöropatik ağrı tedavisi. J Int Med Sci 2005; 1: 41-52.85-90.
10. Eller P, Hochegger K, Honey intoxication and the Bezold–Jarisch reflex, Int J Cardiol 2009, doi:10.1016.206 Jan 26
11. Oztasan N, Altinkaynak K, Akcay F, et al. Effect of Mad Honey on Blood glucose and lipid levels in rat with streptozocin-induced diabetes. Turk J Vet Anim Sci. 2005; 29:1093-96
12. Xenophon: Anabasis, or March Up Country. Fordham University Web site. Available at: [http://www.fordham.edu/halsall/ancient/xenophon-anabasis.html#](http://www.fordham.edu/halsall/ancient/xenophon-anabasis.html#BOOK%20II) BOOK%20II. Bağlantı Aralık 12, 2007
13. Gökçel T, Xenophon: Anabasis, Onbinlerin Dönüşü Sosyal. Yayınlar ikinci baskı, Sena Ofset. sayfa:143-4
14. ABC of Complementary medicine: Herbal medicine. One Hundred years ago-Honey poisoning (bmj 1899; ii: 674). BMJ. 1999;319:1422
15. Kebler LF. Poisonous honey. Am Pharm Assoc proc 1896;44:167-174
16. Biberoglu S, Biberoglu K, Komsuoglu B. Mad honey. JAMA. 1988;259:1943
17. Onat FY, Yegen BC, Lawrence R. Mad honey poisoning in man and rat. Rev Environ Health 1991;9,3–92
18. Ozhan H, Akdemir R, Yazici M,. Cardiac emergencies caused by honey ingestion: a single centre experience. Emerg Med J. 2004; 21:742-4.

19. Durmus I, Türedi S, Gündüz A, Öztürk S. Mad honey poisoning related asystole. *Emerg Med* 2007; 24: 592–3
20. Anşın R. Terzioğlu S. Mor Çiçekli Orman Gülünün Yeni Bir Varyetesi, *Turkish Journal of Agriculture and Forestry* 1994;18: 137-40.
21. Dehnen-Schmutz K, Perrings C, Williamson M, Controlling *Rhododendron ponticum* in the British Isles: an economic analysis, *Journal of Environmental Management* 2004;70(4): 323–32
22. Yuki T, Yamaoka K, Yakehiro M, Seyama I. State-dependent action of grayanotoxin I on Na<sup>+</sup> channels in frog ventricular myocytes. *J. Physiol* 2001;777–90
23. Ascioğlu M, Ozesmi C, Dogan P, et al. Effects of acute grayanotoxin-1 administration on hepatic and renal functions in rats. *Turk J Med Sci.* 2000;30:23-27
24. Katakawa J, Tetsumi T, Terai T, Katai M Crystal and molecular structure of iso-grayanotoxin *Journal of Chemical Crystallography* 2000;30:139-41
25. Yilmaz O, Eser M, Sahiner A, et al. Hypotension, bradycardia and syncope caused by honey poisoning. *Resuscitation.* 2006;68:405–8
26. Yavuz H, Ozel A, Akkus I, et al. Honey poisoning in Turkey. *Lancet.* 1991;337:789-790
27. Yildirim N, Aydin M, Cam F, Celik O. Clinical presentation of non-ST- segment elevation myocardial infarction in the course of intoxication with mad honey. 2008; 26:108.

28. Dursunoglu D, Gur S, Semiz E, A case with complete atrioventricular block related to mad honey. *Annals of emergency medicine*.2007;50:484-485
29. Gunduz A, Meriç ES, Baydin A, Topbaş M, Uzun H, Türedi S, Kalkan A. Does mad honey poisoning require hospital admission? *Am J Emerg Med*. 2009;27(4):424-7
30. Eddleston M, Buckley NA Medical Management of Acute Organophosphorus Pesticide Self-Poisoning. *Lancet*. 2008;16;597–607
31. Anonim (2005). International Association for the study of pain. Erişim: (<http://www.iasp-pain.org/terms>).
32. Julius D, Basbaum AI. (2001). Molecular mechanisms of nociception. *Nature* 413: 203-10.
33. Zhang JM, Donnelly DF, Song XJ, Lamotte RH. (1997).Axotomy increases the excitability of dorsal root ganglion cells with unmyelinated axons. *J Neurophysiol*. 78: 2790-4.
34. Zimmermann M. (2001). Pathobiology of neuropathic pain. *Eur J Pharmacol*. 429: 23-37.
35. Fang X, McMullan S, Lawson SN, Djouhri L. (2005). Electrophysiological differences between nociceptive and non-nociceptive dorsal root ganglion neurones in the rat in vivo *J Physiol* 565: 927–943.
36. Harper AA, Lawson SN. (1985). Electrical properties of rat dorsal root ganglion neurones with different peripheral nerve conduction velocities *J Physiol*. 359: 47-63.

37. Anonim (2005). Basic Science of Chronic Pain. Erişim: ([www.pmrehab.com/pain2.htm](http://www.pmrehab.com/pain2.htm)). Erişim tarihi 19.6.2005.
38. Yenigün M. HerYönüyle Diabetes Mellitus. 2. Baskı. İstanbul, Nobel Tıp Kitabevi 2001;51-61, 63-7, 69-81, 215-17, 237-43.
39. Koloğlu S. Diabetes Mellitus. Koloğlu S. (ed), Endokrinoloji Temel ve Klinik. Birinci Baskı. Ankara, Medical Network & Nobel 1996;368-85.
40. Kahn CR, Weir GC, King GL, Jacobson AM, Moses AC, Smith RJ. Joslin's Diabetes Mellitus. Fourteenth edition. Lippincott Williams and Wilkins, Boston. 2005; 331-338.
41. King H, Rewers M. WHO Ad Hoc Diabetes Reporting Group: Global estimates for prevalence of diabetes mellitus and impaired glucose tolerance in adults. Diabetes Care 1993;16:157-77.
42. King H, Aubert RF, Herman WH. Global burden of diabetes. 1995-2025. Diabetes Care 1998;21:1414-31.
43. Haris MI, Flegal KM, Cowie CC, Eberhardt MS, Golstein DE, Little RR, Wiedmeyer H-M, Byrd-Holt DD. Prevalence of diabetes, impaired fasting glucose and impaired glucose tolerance in U.S. Adults. The Third National Health and Nutrition Examination Survey. 1988-1994. Diabetes Care 1998;21:518-24.
44. Satman I, Yölmaz MT, Baştar I, Şengül A, Sargön M, Salman F, Salman S, Karşıdağ K, Dinççağ N, Yöller G, Tütüncü Y and TURDEP Group. Diabetes Epidemiology Study in Turkey: First step data result. Diabetes 1998;47( supply1) A:384,1480.

45. Eastman RC, Cowie CC, Haris MI. Undiagnosed diabetes or impaired glucose tolerance and cardiovascular risk. *Diabetes Care* 1997;20:127-8.
46. Neufeld ND, Raffel LJ, Iandone C, Ida Chen Y-D, Vadhem CM. Early presentation of type 2 diabetes in Mexican-American youth. *Diabetes Care* 1998;21:80-86.
47. Alberti KGMM, Zimmet PZ. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus. Provisional Report of a WHO Consultation. *Diabet Med* 1998;15:539-53.
48. Dy PJ (editor). Periferik Nöropati. Harati Y (çeviren). İstanbul Bilimsel ve Teknik Yayınları Çeviri Vakfı 1992; 231-264.
49. International Diabetes Forum Website. Prevalence of diabetes. <http://www.idf.org/home/index.cfm>
50. Davon A.Marcus. Chronic pain. A primary Care Guide to Practical Management (2nd edition). Humana Press, Totowa, NJ, USA 2005; 114-115.
51. Michael J. Aminoff (editor). *Neurology and General Medicine* (3rd edition). Churchill Livingstone, Philadelphia 2001; 342.
52. UK Prospective Diabetes Study Group: Tight blood pressure control and risk of macrovascular and microvascular complications in type 2 diabetes: UKPDS 38. *BMJ* 317:703-713, 1998



53. Yagihashi, S, Wada R. Pathology and pathogenetic mechanisms of diabetic neuropathy: correlation with clinical sings and symptoms. *Diabetes Res Clin Pract.* 2007; 77Suppl 1:S184-9. Epub 2007 Apr 26.Review.
54. Ertaş M. Nöroloji. A.Emre Öge (editör), İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Yayınları Nobel kitabevi 2004; 617-618.
55. Malik RA, Tesfaye S, Newrick PG, Walker D, Rajbhandari SM, Siddique I, Sharma AK, Boulton AJ, King RH, Thomas PK, Ward JD: Sural nevre pathology in diabetic patients with minimal but progressive neuropathy. *Diabetologia* 48(3):578-585, 2005.Epub 2005 Feb 24.
56. Güvener N.Diabetik nöropati. İlçin G, Biberöglu K, Ünal S, Akalın S,Süleymanlar G (editörler). *Temel İç Hastalıkları. İstanbul: Güneş Kitabevi 1997; 2: 21-25.*
57. Mc Nittp K, Newlon P, Vinik AI. Diabetic neuropathies. An overview of clinical aspects diabetes mellitus. Le Roith D, Taylor SI, Olefsky SM (editors). New York 1996; 737-750.
58. American Diabetes Association: Standards of medical car efor patients with diabetes mellitus. *Diabetes Care* 26:S33-S50, 2003
59. İlçin G, Ünal S, Biberöglu K, Akalın S, Süleymanlar G.Diabetes mellitus: tipleri, sınıflandırılması ve tanısı. *Temel iç hastalıkları. Güneş kitabevi. İstanbul 1997; 2: 25.*
60. Airey M, Bennett C, Nicolucci A, Williams R: Aldose reductase inhibitors fort he prevention and treatment of diabetic peripheral neuropathy. *Cochrane Database Syst Rev* 2:CD002182, 200.

61. Olney RK. Clinical trials for polyneuropathy: the role of nerve conduction studies, quantitative sensory testing, and autonomic function testing. *J Clin neurophysiol* 1998; 15: 129-137.
62. Ertekin C. Polinöropatiler. Klinik elektromiyografi. İzmir Ege üniversitesi Matbaası 1977; 292-307.
63. Ziegler D, Sohr CG, Nourooz- Zadeh j: Oksidative stres and antioksidant defense in relation to the severity of diabetic polineuropathy and cardiovascular autonomic neuropathy. *Diabetes Care* 27:2178-2183,2004.
64. Ziegler D: Kardiovasküler autonomic neuropathy: Clinical manifestations and measurement. *Diabetes Review* 7:342-357,1999
65. Wuarin B, Zahnd GR, Kaufmann F, Burcklen L and Adler J. Hyperalgesia in spontaneous and experimental animal models of diabetic neuropathy. *Diabetologia* 1987; 30: 653-658.
66. Davon A.Marcus. Chronic pain. A primary Care Guide to Practical Management (2nd edition). Humana Pres, Totawa, NJ, USA 2005; 114-115.
67. Yeşil S. Diabetik nöropati ve tedavisi. *Aktüel Tıp Dergisi* 1997; 1(Suppl 9): 604 606.
68. Proceedings of a consensus development conference on standardized measures in diabetic neuropathy. *Diabetes Care* 1992;15(Suppl 3):1080-107.
69. Dyck PJ. Detection, characterization and staging of polyneuropathy: assessed in diabetics. *Muscle Nerve* 1988;11:21-32.

70. Young MJ, Boulton AJM, Macleod AF et al. A multicentre study of the prevalence of diabetic peripheral neuropathy in the United Kingdom hospital clinic population. *Diabetologia* 1998;36:150-4.
71. Devor M. Sodium channels and mechanisms of Neuropathic pain. *J Pain* 2006;7(Suppl15): 3-12.
72. Vinik AI, Erbas T, Park TS, Pierce KK, Stansberry KB: Methods for evaluation of peripheral neurovascular dysfunction. *Diabetes Technol Ther* 3:29-50,2003
73. Fox A, Eastwood C, Gentry C, Manning D, Urban L. Critical evaluation of the streptozotocin model in the rat. *Pain* 1999; 81: 307-316.
74. Boulton AJ: Treatment of symptomatic diabetic neuropathy. *Diabetes Metab Res Rev* 19 Suppl 1:S16-21,2003.
75. Handwerker HO, Kobal G. (1993). Psychophysiology of experimentally induced pain. *Physiol Rev* 73: 639-671.
76. Treede RD, Meyer RA, Raja SN, Campbell JN. (1995). Evidence for two different heat transduction mechanisms in nociceptive primary afferents innervating monkey skin. *J Physiol* 483: 747-758.
77. Gilchrist HD, Allard BL, Simone DA. (1996). Enhanced withdrawal responses to heat and mechanical stimuli following intraplantar injection of capsaicin in rats. *Pain* 67: 179-188.

78. Le Bars D, Gozariu M, Cadden SW. (2001). Animal models of nociception. *Pharmacol Rev.* 53: 5(
79. Ozcan M, Ayar A, Canpolat S, Kutlu S. Antinociceptive efficacy of levetiracetam in a mice model for painful diabetic neuropathy. *Acta Anaesthesiol Scand.* 2008 52: 926-930.). 97-652.
80. Kobayashi T, Yasuda M, Seyama I. Developmental toxicity potential of grayanotoxin I in mice and chicks. *J Toxicol Sci.* 1990;15: 227-34.
81. Hargreaves K, Dubner R, Brown F, Flores C, Joris J. A new and sensitive method for measuring thermal nociception in cutaneous hyperalgesia. *Pain* 1988; 32:77-88).
82. Jarvis B, Coukel AJ. Review of its Therapeutic Use in Painful Diabetic Neuropathy. *Drugs* 56: 691-698, 1998.
83. Benbow SJ, Mac Farlane IA. Painful Diabetic Neuropathy. *Blairliere's Clin-Endoc Metab* 13:295-308,1999.
84. Erdinç OO. Diyabette Ağrılı Nöropati Tedavisi. I.Ulusal Diabetik Nöropati Sempozyumu (ed: Aynur Özge 2002 Mersin Üniversitesi Yayınlarından) 31 Mayıs-3 Haziran 2001 Mersin (sempozyum), 184-190.
85. Cui JG, Linderth B, Meyerson BA. Effects of spinal cord stimulation on touch evoked allodynia involve GABAergic mechanisms. An experimental study in mononeuropathic rat. *Pain.* 1996; 66: 287-295.

86. Kelly KM. Gabapentin; antiepileptic mechanism of action. *Neuropsychobiology* 1998; 38: 139-144. 139. Calcutt NA. Potential mechanism of neuropathic pain. *Int Rev Neurobiol* 2002;50: 205-228.
87. Volmer KO, Von Hodenburg A, Kollé EU. Pharmacokinetics and metabolism of gabapentine in rat, dog and man. *Arzneimittelforschung* 1986; 36: 830-839
88. Calcutt NA. Potential mechanism of neuropathic pain. *Int Rev Neurobiol* 2002;50: 205-228.
89. Site [www.ilacabak.com](http://www.ilacabak.com) pregabalin 2008.
90. Svensson P, Cairns BE, Wang K, Arendt-Nielsen L. 2003. Injection of nerve growth factor into human masseter muscle evokes long-lasting mechanical allodynia and hyperalgesia. *Pain* 104(1-2):24
91. Sütülpınar N., Mat A., Satganoğlu Y. Poisoning by toxic honey in Turkey. *Arch Toxicol* (1993) 67: 148-150.